

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

CONTRÔLE DES LÉGIONELLES DANS LES RÉSEAUX D'EAU CHAUDE PAR UNE
APPROCHE DE GESTION DE L'HYDRAULIQUE ET DES TEMPÉRATURES

INÈS BOPPE

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)

AOÛT 2016

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

CONTRÔLE DES LÉGIONELLES DANS LES RÉSEAUX D'EAU CHAUDE PAR UNE
APPROCHE DE GESTION DE L'HYDRAULIQUE ET DES TEMPÉRATURES

présenté par : BOPPE Inès

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Mme DORNER Sarah, Ph. D., présidente

Mme PRÉVOST Michèle, Ph. D., membre et directrice de recherche

Mme BOURDEAU Suzel, B. Ing, membre

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord ma directrice de recherche, Michèle Prévost de m'avoir acceptée dans son équipe et de m'avoir proposé un sujet aussi intéressant. Merci pour ton expertise et ton suivi, en coup de vent soit, mais toujours aussi efficace. J'ai beaucoup appris grâce à toi.

Un grand merci à Émilie Bédard pour ton temps dévoué sans limite. Le mémoire, l'article, le projet, rien n'aurait été possible sans toi. Merci pour ton suivi, pour ton professionnalisme, ton optimisme sans faille mais aussi pour tous les bons moments.

Un grand merci à mes collègues de bureau qui ont rendu ces deux ans de maîtrise si vivants : merci à Catherine, Claire Blondel, Daphné, Julien, Laura Dauphin, Claire Wauquiez, Cédric, Laura Ouellet et Charles-Éric. Merci pour ces moments de rire et de plaisirs partagés. Pour ceux qui finissent bientôt/dans longtemps leur maîtrise, lâchez pas !

Un grand merci à tout le personnel de la Chaire pour son efficacité, sa réactivité et son dévouement. Un merci tout particulier à Yves qui m'a accompagnée de très tôt le matin à très tard le soir, toujours avec le sourire. Malgré les nombreux projets sur lesquels tu travailles, tu as toujours su te rendre disponible. Merci à Jacinthe et Mélanie pour leur aide au laboratoire, monde que je ne connaissais pas du tout en arrivant.

Je remercie le personnel de la Chaire qui rend si festives ces rencontres tous ensemble. Merci pour votre flexibilité et votre joie de vivre.

Enfin je remercie les amis et la famille qui m'ont soutenue de près ou de très loin pendant ces 2 ans dans un pays qui m'a si bien accueillie. Un grand merci à Mathieu (pour ces apéros le lundi soir), Sara, Claire, Valentin, JB, Pierre, Lukas, Ellen, Élisabeth, Romain, Adrien et Alexis avec qui j'ai passé des moments hors du temps et sans qui tout ça n'aurait pas été possible. Votre soutien au jour le jour m'a beaucoup aidée.

Robin, je pense fort à toi. « La montagne n'est ni juste ni injuste, elle est dangereuse. »

RÉSUMÉ

Ce projet a pour vocation d'identifier au sein des réseaux d'eau chaude des grands bâtiments les zones ayant un potentiel d'amplification élevé pour *Legionella*, de quantifier l'impact d'équipements défectueux tels que les robinets, les systèmes de douche et les pompes de recirculation sur le système hydraulique, de proposer par la suite aux hôpitaux des méthodes durables de traitement et de contrôle de la qualité microbiologique et finalement de suivre les évolutions de positivité en *Legionella pneumophila* dans le réseau d'eau chaude suite à la mise en place des méthodes proposées.

Deux hôpitaux au Québec ont été suivis entre 2014 et 2016. Le premier avait reçu des plaintes au niveau d'une aile concernant le manque d'eau chaude et les fortes variations de température. Le second hôpital a connu deux cas de légionellose dans une des ailes en été 2014. Suite à la déclaration des cas, une désinfection thermique (70°C pendant 7 minutes et plus) ainsi que des rinçages hebdomadaires ont été mis en place. Une température consigne de 60°C a été fixée en sortie de chauffe-eau. Dans les deux hôpitaux un suivi des températures et des débits au niveau des boucles de recirculation secondaires ainsi que des échantillonnages en *Legionella pneumophila* ont été initiés. Des profils de température ont été réalisés afin de vérifier le maintien des températures dans le temps et la température maximale atteinte. Dans les deux hôpitaux, les caractéristiques physico-chimiques suivantes ont été relevées dans un volume de 500 mL après rinçage du premier litre : température maximale de l'eau chaude, chlore résiduel, conductivité, oxygène dissous, concentration en ions (cuivre, argent, zinc, fer) et débit. Des mesures correctives ont été mises en œuvre durant l'étude, notamment concernant le régime hydraulique et thermique. L'évolution de positivité en *Legionella pneumophila* a été quantifiée en culture pour les deux hôpitaux ainsi qu'en qPCR pour le second établissement. Pour chacun des robinets et ainsi que des points du système, un litre d'eau chaude au 1^{er} jet a été analysé en culture selon la norme AFNOR NF T90-431 et en qPCR selon la norme NF-T90 471.

Les résultats de suivi de température et de débit ont montré dans les deux hôpitaux une incapacité du système à fournir une eau à au moins 55°C à l'ensemble des points distaux ainsi qu'une déficience du système de recirculation, qui n'atteignait pas les 55°C recommandés. Le système de recirculation comportait des zones de stagnation et d'inversions d'écoulement qui perturbait le régime hydraulique. Des équipements défectueux comme les pompes de recirculation secondaire

et des systèmes de douche ont aussi été mis en cause dans le mélange entre les eaux froide et chaude. Après avoir mis en œuvre des actions adaptées à chaque système distribution telles que l'arrêt des pompes de recirculation secondaires, l'équilibrage du débit entre les différentes ailes, la suppression de plusieurs mètres de bras morts ou bien les rinçages hebdomadaires, de nettes améliorations ont pu être constatées dans les deux établissements. Au sein du premier hôpital, la température de l'eau chaude obtenue après 5 minutes de rinçage à 45 robinets est passée de 42.8°C à 53.0°C en deux mois. A l'entrée de l'aile connaissant les plus importants problèmes hydrauliques, la température de l'eau chaude a augmenté de 5.9°C en moyenne. Dans cette même aile où la concentration en *Legionella pneumophila* était en moyenne 3 fois supérieure aux autres ailes, le nombre de points positifs a chuté de 100% à 56%. Dans une des deux ailes étudiées de l'autre hôpital, la concentration moyenne en *Legionella pneumophila* aux points d'utilisation est passée en qPCR de 13 000 UG/L à 470 UG/L entre novembre 2014 et juillet 2015. L'autre aile a aussi connu une baisse de contamination durant cette période puisque la concentration moyenne est passée de 84 000 UG/L à 25 000 UG/L. Cependant, comme les résultats sont plus mitigés, une source de contamination dans la boucle de recirculation du sous-sol est suggérée. Les résultats statistiques ne montrent pas de corrélation entre les concentrations en *L.pneumophila* et la distance entre le point d'utilisation et le chauffe-eau.

Nos résultats s'accordent avec la littérature et soulignent l'importance d'un régime hydraulique équilibré, distribuant une eau chaude à un minimum de 55°C à l'ensemble des points distaux et incluant une vitesse minimale de 0.2 m/s dans les conduites pour minimiser les pertes de chaleur et les périodes de stagnation. Notre étude permet d'émettre des recommandations applicables aux grands bâtiments dans le but de réduire le risque lié aux légionelles lorsque le réseau est déjà contaminé. Ces actions, telles que l'équilibrage des débits selon les températures entre les différentes unités ainsi que l'investigation des bras morts grâce à des sondes de température et des débitmètres permettent de rétablir rapidement la fonctionnalité d'un réseau déficient avant de pouvoir faire diminuer le risque de manière plus efficace.

ABSTRACT

The goal of this project is to identify *Legionella* high amplification zones within hot water distribution systems of large buildings, to quantify the impact of faulty devices such as faucets, shower systems and recirculation pumps on the hydraulic system, to suggest sustainable methods of treatment and control of the microbiological quality to the hospital staff and finally to monitor the evolution of *Legionella pneumophila* positivity within the hot water distribution system following the implementation of the suggested methods.

Two hospitals in Quebec were monitored between 2014 and 2016. The first hospital received complaints concerning the lack of hot water and wide temperature variations from one of the wings. The second hospital has undergone 2 legionnaire's disease cases in one of the wings during the summer of 2014. Following the declaration of the 2 cases, a thermal disinfection (70°C for at least 7 minutes) and weekly flushings were initiated. A temperature setpoint of 60°C was implemented at the outlet of the water heater. Temperatures and flows were recorded in both hospitals at the base of each secondary vertical and horizontal flow and return loop. Samplings of *Legionella pneumophila* were also taken. Temperature profiles at the tap were carried out to know the maximum temperature and whether the temperature maintains in time. The following physico-chemical characteristics were measured in a 500-mL bottle after flushing the first liter: maximal temperature of hot water, residual chlorine, conductivity, dissolved oxygen, ions concentrations (copper, silver, zinc, iron) and the flow. Corrective measures were set up during the study, particularly the hydraulic and thermal regime. The evolution of positivity of *Legionella pneumophila* was quantified by culture in both hospitals and by qPCR in the second hospital. For each tap and system sampling point, the first hot water liter was analysed according to the AFNOR NF T90-431 norm for culture and according to the NF T90-471 norm for the qPCR.

Results of temperature and flow monitoring show in both hospitals the incapacity to supply hot water at at least 55°C to all distal points of use. They also show a deficiency in the recirculation system, which did not meet the 55°C recommendation. The recirculation system included areas of stagnation and reverse flow which impaired the hydraulic regime. Faulty device such as secondary recirculation pumps and shower systems were shown to be responsible for hot and cold water mixing. After setting up adapted actions to each distribution system such as turning off the secondary recirculation pumps, balancing the flow between the different wings, removing meters

of dead ends and weekly flushing, great improvements were noticed in both hospitals. In the first hospital, the mean hot water temperature obtained at 45 taps after a 5-minute flush increased from 42.8°C to 53°C within 2 months. The mean hot water temperature at the entrance of the wing which had the most important hydraulic deficiencies increased by 5.9°C. The same wing had *Legionella pneumophila* concentrations which were 3 times higher than the other wings. The number of positive points of use in this wing decreased from 100% to 56%. In one of the two studied wings in the second hospital, the mean *Legionella pneumophila* concentration decreased at the points of use from 13 000 GU/L to 470 GU/L by qPCR between November 2014 and July 2015. The other wing also recorded a decrease in contamination during the same period: the mean concentration decreased from 84 000 GU/L to 25 000 GU/L. However, this wing shows more mixed results. A source of contamination in the recirculation loop of the basement is suggested and should be investigated. Statistical results show no correlation between *Legionella pneumophila* concentrations and the distance between the point of use and the water heater outlet.

Our results agree with the literature and underline the importance of a balanced hydraulic regime which distributes a hot water with a minimal temperature of 55°C to all distal taps and includes a minimal flow velocity of 0.2 m/s to minimize heat losses and periods of stagnation. Recommendations can be drawn from our study and are applicable to large buildings in order to reduce the risk associated to *Legionella* when the system is already contaminated. These recommended actions, such as balancing the flows based on the temperatures between the different wings or investigating dead ends by means of temperature sensors and flowmeters enable the fast and effective rehabilitation of a deficient hot water distribution system.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	III
ABSTRACT	V
TABLE DES MATIÈRES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	XIII
LISTE DES ANNEXES	XV
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Les légionelles : un problème persistant au sein des grands bâtiments.....	6
2.1.1 Écologie de <i>Legionella pneumophila</i>	6
2.1.2 Les légionelles dans les établissements de santé.....	7
2.2 Facteurs influençant le développement de <i>Legionella pneumophila</i>	9
2.2.1 Le régime thermique et hydraulique des réseaux d'eau chaude.....	9
2.2.2 Les matériaux	11
2.2.3 Les points d'utilisations et leur environnement	12
2.3 Recommandations internationales et leviers d'action pour le contrôle des légionelles .	14
2.3.1 Seuils d'alerte et d'action	14
2.3.2 Hausse et maintien des températures.....	14
2.3.3 Désinfections chimiques.....	17
CHAPITRE 3 DÉMARCHE DU PROJET DE RECHERCHE	22

3.1	Caractérisation du régime hydraulique : suivi en continu des températures et des débits	22
3.1.1	Diagnostic de la boucle principale de recirculation	22
3.1.2	Diagnostic des boucles secondaires	22
3.2	Caractérisation des points d'utilisation	23
3.3	Prévalence de <i>Legionella pneumophila</i> : échantillonnage d'eau aux points d'utilisation et au système	23
3.4	Mise en place de mesures curatives et suivi de l'évolution de la contamination en légionelles.....	24

CHAPITRE 4 ARTICLE 1: INVESTIGATIVE APPROACH TO IMPROVE HOT WATER SYSTEM HYDRAULICS THROUGH TEMPERATURE MONITORING TO REDUCE BUILDING ENVIRONMENTAL QUALITY HAZARD ASSOCIATED TO LEGIONELLA .25

4.1	INTRODUCTION.....	26
4.2	METHODS.....	29
4.2.1	Description of the study site.....	29
4.2.2	Water sampling approach for <i>L. pneumophila</i> and physico-chemical evaluation	30
4.2.3	Continuous measurements across the hospital and temperature profiles	31
4.2.4	Detailed investigation of shower valves.....	32
4.2.5	Statistical analysis	32
4.3	RESULTS AND DISCUSSION	33
4.3.1	Monitoring of temperature in the HWDS.....	33
4.3.2	Detection of <i>Legionella pneumophila</i> in the HWDS	34
4.3.3	Effect of hot and cold water mixing at the point of use on the hot water system temperature.....	40
4.3.4	Impact of the addition of local secondary recirculation pumps	42
4.3.5	Impact of hydraulic system improvements on temperature up to the point of use	46

CHAPITRE 5	RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES : ÉTUDE AU SEIN D'UN AUTRE ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ	51
5.1	Mise en contexte.....	51
5.2	Evolution des concentrations en <i>Legionella pneumophila</i> en fonction de l'échantillonnage	52
5.3	Diagnostic du réseau d'eau chaude	55
5.3.1	Boucle principale de recirculation.....	56
5.3.2	Diagnostic des boucles de circulation secondaires des ailes A et B	56
5.4	Caractérisation des points d'utilisation	60
5.4.1	Caractéristiques physiques	60
5.4.2	Profils de température	61
CHAPITRE 6	DISCUSSION GÉNÉRALE	65
CHAPITRE 7	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	67
BIBLIOGRAPHIE	70
ANNEXES	80

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Actions et risque associés à la concentration de <i>Legionella pneumophila</i> selon les différents pays	19
Table 4.1: Positivity of <i>L.pneumophila</i> (% or CFU/L) compared to physicochemical results in all wings and particularly in wing 3	35
Table 4.2: Mean temperature and standard deviation of the recirculated water at the entrance of Wings 1 to 8 in March and May 2016. ΔT represents the difference between May and March for each Wing. The changes made in the hot water and recirculation systems have led to an average of +5.9°C in the whole recirculation system.....	46
Tableau 5.1: Proportion des robinets positifs, de la valeur moyenne et de l'écart-type pour Lp en qPCR et culture par aile et par date d'échantillonnage	53
Tableau 5.2 : Répartition des robinets dans les ailes A et B selon le type de robinet	60
Tableau 5.3 : Résultats moyens en <i>L.pneumophila</i> par type de robinet, résultats de 3 échantillonnages combinés	61
Tableau 5.4 : Concentrations en cuivre et argent mesurées dans l'eau froide et chaude pour les ailes A et B.....	63

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Nombre de cas rapportés de légionellose aux États-Unis entre 2000 et 2014 tiré de (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & U. S. Department of Health and Human Services, 2016)	8
Figure 2.2 : Viabilité de <i>Legionella pneumophila</i> sérotype 1 en fonction du temps, pendant une désinfection à 70°C, tirée de (Allegra et al., 2011). Chaque lettre correspond à un réseau d'eau étudié.	16
Figure 4.1 : Hot water distribution system schematic, including pumps location, wing(s) supplied by each horizontal secondary flow and return (F&R) loops, distance from the manifold, and riser configuration within Wing 3	29
Figure 4.2: Variation of <i>L.pneumophila</i> (CFU/L) as a function of the maximum hot water temperature measured at the tap	36
Figure 4.3: (A) Variation of <i>L.pneumophila</i> (CFU/L) depending on the type of point-of-use. Shower, n=9; foot-operated, n=8; manual, n=10. (B) Evolution of <i>L.pneumophila</i> (CFU/L) before (October 2015 –April 2016, n=27) and after (June 2016, n=6) the hydraulic corrective measures.	38
Figure 4.4: Evolution of <i>L. pneumophila</i> (CFU/L) depending on the distance covered by the hot water between the manifold and the point of use ($R^2=0.36$)	39
Figure 4.5: Temperature and flow of hot water at one of the vertical pipes in Wing 3 during the 'faulty shower' test. The mixing valve of the shower was kept open during period A and C and was kept closed during period B. Figure 6 shows that one shower has an impact on the hot water temperature of the whole riser. Black dotted line: median.....	41
Figure 4.6: Temperatures at the entrance (A & B) and end (C & D) of wing 3, before (A & C) and after (B & D) the modifications of the hydraulic system. Temperatures of hot water (black) and recirculated water (grey) were taken on vertical risers in January and May 2016.	43
Figure 4.7: Impact of secondary recirculation pump shutdown on temperatures in Wing 3 in February 2016. Hot water (black) and recirculated water (grey) temperatures were taken on main horizontal pipes.	44

Figure 4.8: Hot water temperature profiles at point of use as a function of volume throughout system changes. a) 2012-2013, n= 45; b) April 2016, n= 39; c) May 2016, n=16. ■ median; boxes = 25% - 75%; whiskers = min-max;.....	47
Figure 5.1 : Distribution des concentrations de Lp par méthode de détection qPCR (bleu clair) et culture (bleu foncé) dans l'aile A ; □ = médiane ; boîtes = 10%-90% ; moustaches = min-max; n= 10. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016)	54
Figure 5.2 : Concentrations en <i>Legionella pneumophila</i> dans l'aile B en qPCR (barres) et culture (cercles) mesurées en novembre 2014 (noir), février 2015 (gris foncé), juillet 2015 (gris) et février 2016 (gris clair). Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016).	55
Figure 5.3 : Carte des températures évaluées par les sondes de surface dans l'aile A ; les lignes bleues représentent les conduites d'eau chaude et les lignes noires, les conduites de recirculation.....	57
Figure 5.4 : Températures des retours verticaux des étages 5,6 et 7 (Aile A)	58
Figure 5.5: Température aux robinets dans l'aile A en fonction du volume écoulé. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016)	62
Figure 5.6 : Températures aux robinets dans l'aile B en fonction du volume écoulé. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016).....	62
Figure A2.1: Photo of the faulty shower device in Wing 3. A: mixing valve, B: Upper shower faucet, C: Lower shower faucet. When the patient only closes the upper /lower shower faucet, hot and cold water constantly mix in the mixing valve.....	100

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AFNOR	Association Française de NORmalisation
ASHRAE	American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers
CDC	Centers for Disease Control
CEAEQ	Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec
CHSLD	Centre d'Hébergement et de Soins Longue Durée
CMMQ	Corporation des Maîtres Mécaniciens en tuyauterie du Québec
DH	Department of Health (UK)
Elect	Électronique
EPDM	Éthylène propylène diène monomère
HICPAC	Hospital Infection Control Practices Advisory Committee
HSE	Health and Safety Executive (UK)
INSPQ	Institut National de Santé Publique du Québec
<i>Lp</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
mg/L	partie par million, mg/L
MMWR	Morbidity and Mortality Weekly Report
Moy	Moyenne
N éch	Nombre d'échantillons
N rob	Nombre de robinets
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction
RBQ	Régie du Bâtiment du Québec
T°C	Température
UFC	Unité Faisant Colonie
UG	Unité génomique

VBNC Viables mais Non Cultivables

WHO World Health Organization

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 Article: Combination of Heat Shock and Enhanced Thermal Regime to Control the Growth of a Persistent <i>Legionella pneumophila</i> Strain	95
ANNEXE 2 Figure S1 de l'article "Investigative approach to improve hot water system hydraulics through temperature monitoring to reduce building environmental quality hazard associated to <i>Legionella</i> ".....	114

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

MISE EN CONTEXTE

La présence de légionelles dans les réseaux de distribution d'eau chaude et le risque d'exposition humaines à ces bactéries opportunistes par le biais d'inhalation d'aérosols contaminés représentent une source d'inquiétude es gestionnaires de grands bâtiments. *Legionella pneumophila* (Lp) est à l'origine d'infections qui se présentent sous deux formes : la fièvre de Pontiac, une forme bénigne, et la légionellose, plus sévère et dont le taux de mortalité s'élève à 10% (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & U. S. Department of Health and Human Services, 2016). Les légionelles, naturellement présentes dans l'eau, peuvent proliférer davantage en présence de conditions favorables retrouvées dans les équipements tels que les réseaux d'eau chaude (robinets et pommeaux de douche) (Blanc, Carrara, Zanetti, & Francioli, 2005), bains bouillonnants (Brousseau et al., 2012) et tours de refroidissement à l'eau. Leur présence a aussi été identifiée dans les échangeurs de chaleur à plaques utilisés pour préchauffer l'eau chaude sanitaire (Bédard, Lévesque, et al., 2016).

En raison des éclosions d'origine hydrique documentées en milieu hospitalier, les réseaux d'eau internes doivent être gérés de manière à minimiser la prolifération de bactéries opportunistes telles que *Legionella pneumophila*, surtout lorsque des plages de températures entre 20°C et 50°C sont présentes (Health and Safety Executive (HSE), 2013; République Française, 2010a). Ces températures sont souvent observées dans les conduites de distribution d'eau chaude de réseaux non optimisés pour le contrôle des légionelles et aux points d'utilisation, surtout en présence de robinets et douches thermostatés ou mitigés. Les réglementations récentes visant à réduire les risques de brûlures imposent des températures entre 43 et 49°C aux points d'utilisation (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b; République Française, 2010b). D'autres facteurs tels que la présence de biofilm et de bras morts permettent à la bactérie de s'installer et de survivre aux désinfections chimiques et thermiques. Malgré l'existence de réglementations et recommandations à l'international visant le contrôle des légionelles dans les réseaux d'eau chaude, un nombre croissant de cas de légionellose est rapporté aux États-Unis (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 2013). En parallèle, la pression se fait de plus en plus grande pour réduire la consommation d'eau et

d'énergie en vue d'atteindre des objectifs d'économie imposés à différents paliers de gestion. Dans cet esprit, des projets d'économie d'eau et d'énergie tels que l'installation de robinets à débit restreint, de robinets à activation électroniques et de récupérateurs de chaleur pour préchauffer l'eau chaude peuvent entraîner des effets négatifs pour le contrôle de la légionelle. En effet, bien que l'installation d'aérateurs ou de robinets à débit restreint permette de réduire la consommation en eau, ces points d'utilisation ne bénéficient plus d'un rinçage efficace. Les robinets électroniques sont aussi plébiscités car ils permettent de réduire drastiquement la consommation en eau et évitent le contact avec les mains. Cependant, en plus de réduire le temps d'utilisation et donc de rinçage du robinet à chaque utilisation, ils sont plus onéreux et nécessitent des réparations plus fréquentes que les robinets classiques, tel que rapporté par le personnel technique de plusieurs hôpitaux. D'autres mesures, tel l'arrêt de la pompe de recirculation la nuit dans un but d'économie d'énergie, sont parfois permises (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013a; DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004). Pourtant cette recommandation entraîne une baisse importante de la température de l'eau pendant une période de plusieurs heures, permettant une prolifération de *Lp* dans une eau dont la température chute rapidement entre 30 et 40°C. Lorsque le niveau de légionelles dans le réseau dépasse un certain seuil d'action qui varie selon les pays mais qui se place généralement autour de 1000 UFC/L, il est conseillé de prendre des mesures correctives pour réduire le niveau de contamination. Parmi ces mesures, il peut être conseillé de réaliser une désinfection thermique, c'est-à-dire d'élever la consigne du chauffe-eau à 70°C et d'atteindre cette température à chaque point d'utilisation pendant quelques minutes. La mise en place d'une chloration choc peut aussi être envisagée, à raison d'un dosage de 50 mg/L pour une durée d'une heure, avec un résiduel de 30 mg/L à la fin de cette période (Health and Safety Executive (HSE), 2013). D'autres désinfectants peuvent être considérés et le pH peut aussi être élevé par l'usage de soude, jusqu'à une valeur de 12 pendant une heure (République Française, 2010b). Ces mesures nécessitent au préalable une information aux usagers et un rinçage important.

Malheureusement, la présence de légionelles dans les réseaux d'eau est souvent mise en évidence lorsqu'un cas se révèle au sein des patients. Des plaintes au niveau de la faible température de l'eau chaude ou de périodes prolongées requises pour obtenir la température désirée devraient aussi être utilisées comme un indicateur de conditions déficientes de circulation dans les réseaux d'eau

chaude. Dans les deux cas, une investigation au niveau des températures en sortie du chauffe-eau et aux points d'utilisation est nécessaire afin d'identifier les secteurs à risque et mettre en place un plan d'action pour remédier à la situation (Bédard 2015). Lorsqu'il est nécessaire de quantifier la présence en légionelles dans l'eau, la détection et la quantification peuvent être faites par méthode de culture ou par méthode moléculaire, soit la quantification par réaction en chaîne par polymérase (PCR). La méthode de culture est celle utilisée dans la plupart des réglementations et traditionnellement utilisée en milieu hospitalier (Lee et al., 2011). Elle permet de dénombrer les bactéries cultivables sur un milieu de culture sélectif, mais bactéries viables non cultivables (VBNC) ne sont pas détectées par cette méthode. Pourtant, certaines conditions présentes dans les réseaux de distribution d'eau des grands bâtiments telles le manque de nutriments ou la présence de désinfectants peuvent provoquer un état de stress pour les légionelles, qui deviennent non cultivables mais qui, au retour de conditions plus favorables, peuvent retrouver leur cultivabilité et leur virulence (Li, Mendis, Trigui, Oliver, & Faucher, 2014). De plus la méthode de culture nécessite plusieurs jours avant de pouvoir obtenir des résultats confirmés. La méthode qPCR permet de dénombrer toutes les bactéries présentes, incluant les VBNC. Ces méthodes offrant des avantages et se complétant bien, elles ont toutes les deux été utilisées dans le cadre des travaux présentés dans ce mémoire. Étant donné les ressources financières et humaines qui sont nécessaires à la détection des légionelles, l'utilisation de paramètres plus faciles à mesurer tel que la température est beaucoup plus avantageuse pour cibler les secteurs à risque et ainsi mieux orienter les mesures de légionelles dans ces zones plus susceptibles d'être contaminées (Bédard, Boppe, et al., 2016).

Ce mémoire présente les résultats de recherche obtenus par le biais d'études qui ont été menées en parallèle au sein de deux centres hospitaliers universitaires. Dans le but de réduire le risque de développement des légionelles, le fonctionnement des systèmes hydrauliques était placé au centre des investigations. Une approche en entonnoir (du plus général au plus local) a été choisie pour le contrôle des températures. Le suivi des températures en continu a permis de cartographier le système et ainsi de repérer les zones de pertes de chaleur et de problèmes au niveau de l'hydraulique. À titre d'exemple, l'impact d'équipements défectueux tels les mitigeurs sont à l'étude car ceux-ci peuvent entraîner des mélanges entre les réseaux d'eau froide et d'eau chaude ou des inversions d'écoulement. Leur impact sur les températures et les vitesses d'écoulement sera présenté. Les caractéristiques physico-chimiques et d'autres paramètres (distance à la source,

type de robinet, type de raccordement) ont aussi été considérés comme possibles facteurs favorisant la prolifération de *Lp*.

OBJECTIFS.

Le projet de recherche a pour objectif de compléter les connaissances sur le contrôle des légionelles dans des grands bâtiments existants par la gestion des températures et de l'hydraulique et déterminer l'impact que peuvent avoir certains équipements hydrauliques sur le développement de ces bactéries.

Les objectifs spécifiques du projet sont :

- Identifier les zones ayant un potentiel d'amplification élevé dans le réseau d'eau chaude et fournir aux hôpitaux une analyse de risque microbiologique
- Quantifier l'impact d'équipements défectueux, tels que les robinets, système de douche et pompes de recirculation sur le système hydraulique
- Proposer aux hôpitaux des méthodes durables de traitement et de contrôle de la qualité microbiologique adaptées à leurs besoins et leurs spécificités
- Suivre les évolutions de positivité en *Legionella pneumophila* dans le réseau d'eau chaude suite à la mise en œuvre de ces méthodes

PLAN DU MÉMOIRE

Ce mémoire se compose de quatre chapitres. Le premier chapitre est composé d'une revue de la littérature qui présente les connaissances générales sur la contamination en légionelle des grands bâtiments, sur les contraintes en milieu hospitalier et sur les leviers dont on dispose pour le moment pour contrôler les légionelles dans les réseaux d'eau chaude. Le deuxième chapitre présente la méthodologie choisie pour atteindre les objectifs de l'étude et les outils mis en place. Le troisième chapitre est constitué de l'article scientifique qui a été soumis à la revue « Building and Environment ». L'article illustre la méthode et les actions mises en œuvre dans un des deux hôpitaux étudiés pour atteindre les objectifs spécifiques cités plus haut. Le quatrième chapitre décrit les résultats obtenus dans l'autre hôpital et développe une discussion sur ces données. Le cinquième chapitre inclut une discussion finale, les limitations de ce projet et les perspectives d'avenir.

Un article a également été placé en annexe 1, s'intitulant "Combination of Heat Shock and Enhanced Thermal Regime to Control the Growth of a Persistent *Legionella pneumophila* Strain" publié en avril 2016 dans la revue Pathogens. La candidate a participé à la récolte des données et à la mise en forme de certaines figures.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre commence par une présentation générale de la bactérie *Legionella pneumophila* et de son écologie dans les réseaux d'eau chaude, suivi par une présentation de l'importance de suivre la présence de légionelles dans les grands bâtiments et les coûts que peut engendrer une contamination du réseau. Cette première partie est suivie par une description des facteurs influençant le développement de *Lp* dans les réseaux d'eau chaude. La dernière partie présente les réglementations qui existent à l'international quant aux niveaux de contamination microbiologique puis les leviers d'action que l'on détient pour contrôler le développement des légionelles.

2.1 Les légionelles : un problème persistant au sein des grands bâtiments

Les grands bâtiments en général sont plus susceptibles à la contamination en légionelles, notamment par la complexité de leur réseau.

2.1.1 Écologie de *Legionella pneumophila*

Il existe une cinquantaine de variétés de bactéries *Legionella*, dont *Legionella pneumophila*. Cette bactérie est une bactérie pathogène opportuniste que l'on retrouve dans les eaux entre 25°C et 42°C (Fields, Benson, & Besser, 2002). *Lp* perd sa viabilité mais survit quand même jusqu'à une température de 70°C (Katz & Hammel, 1987). *Legionella* a aussi été retrouvée dans des eaux polaires allant jusqu'à 0°C (Carvalho, Nastasi, Gamba, Foronda, & Pellizari, 2008). Lorsque soumise à ces températures extrêmes, *Lp* ne peut plus croître mais peut rester viable. Elle entre dans un état viable mais non cultivable (VBNC), qui lui permet de survivre dans des conditions difficiles sans toutefois se reproduire (Oliver, 2010). Sous des conditions plus favorables, *Lp* peut redevenir cultivable et croître à nouveau (Allegra et al., 2008). Les légionelles sont surtout retrouvées dans les systèmes où l'eau est plus chaude que naturellement, c'est-à-dire les systèmes de distribution d'eaux froide et chaude (Arvand, Jungkind, & Hack, 2011), les spas et bains tourbillonnants (Brousseau et al., 2012) et les tours aéro-réfrigérantes (Dondero et al., 1980; Levesque et al., 2014). *Legionella* est majoritairement retrouvée dans des eaux avec un pH compris entre 5.5 et 8.1 (Fliermans et al., 1981). Une étude menée par S. M. Katz montre une baisse de 6 logs de *Legionella pneumophila* en un mois à un pH de 8. A un pH compris entre 2 et 3, *Legionella* ne survit que quelques minutes (Katz & Hammel, 1987).

Legionella vit en symbiose avec les protozoaires libres, dont notamment 14 espèces différentes d'amibes (Fields et al., 2002). La survie de *Lp* en l'absence de protozoaires est peu documentée. Cette

association entre les deux espèces permet à *Legionella pneumophila* de mieux se protéger des stress environnementaux, notamment des désinfections chimiques, dont l'impact est grandement amoindri lorsque *Legionella* est protégée à l'intérieur de l'amibe (Abdel-Nour, Duncan, Low, & Guyard, 2013; Fields, 1993). Lorsque placée à l'intérieur d'une amibe thermo-résistante, *Legionella pneumophila* peut aussi résister à un choc thermique (Storey, Winiecka-Krusnell, Ashbolt, & Stenström, 2004). Dans les conduites de distribution d'eau, les légionelles peuvent s'intégrer au biofilm, qui leur procure une défense supplémentaire et leur fournit les nutriments essentiels à leur développement. De par la protection et le confort que le biofilm offre, *Legionella* a tendance à se trouver en plus grand nombre dans le biofilm que libre dans l'eau (Rogers, Dowsett, Dennis, Lee, & Keevil, 1994). En effet, il est estimé que seulement 5% de la communauté microbienne se trouve en phase aqueuse (Wingender & Flemming, 2004). Le reste se trouve donc dans le biofilm, qui peut abriter d'autres espèces pathogènes telles que *Salmonella Typhimurium* (Armon, Starosvetzky, Arbel, & Green, 1997). Le contrôle du développement du biofilm représente donc un enjeu capital pour les systèmes d'eau. Des facteurs ont été isolés comme favorisant le développement du biofilm, parmi eux figurent le type de matériau, la température de l'eau, la présence de désinfectant et la vitesse d'écoulement de l'eau (Eboigbodin, Seth, & Biggs, 2008).

2.1.2 Les légionelles dans les établissements de santé

Les grands bâtiments, à cause de la complexité de leur réseau d'eau et la multiplicité des points d'utilisation, sont vulnérables à la prolifération de légionelles. De plus, les hôpitaux et établissements de soins de santé de longue durée (CHSLD) hébergent des populations plus à risque d'être infectées en raison de leur vulnérabilité. Il est fréquent de retrouver des échantillons positifs en *Legionella pneumophila* dans les hôpitaux (Colbourne, Pratt, Smith, Fisher-Hoch, & D., 1984; Fisher-Hoch et al., 1981; Kanamori, Weber, & Rutala, 2016; Leoni et al., 2005; Marchesi, I. et al., 2011; O'Mahony et al., 1990). En France, en 2000, 35% des établissements avaient réalisé des analyses de risque de légionellose (Haut Conseil de la Santé Publique, 2002). Parmi ces bâtiments, 40% avaient effectué une recherche de contamination et 70% d'entre eux avaient des points colonisés (>103 UFC/mL). Pour de nombreux cas, les tours de refroidissement à l'eau ou le système de distribution d'eau chaude sont mis en cause. La bactérie *Legionella*, lorsque présente dans le réseau de distribution, cause plus de la moitié des épidémies dues à l'eau aux États-Unis en 2009-2010 (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 2013).

Legionella est responsable de deux maladies chez l'humain : la fièvre de Pontiac et la légionellose. Cette dernière présente les mêmes symptômes que la pneumonie mais entraîne des taux élevés de mortalité, surtout pour les cas nosocomiaux (Bartram, Chartier, Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007). Il existe certains facteurs de risque connus comme le fait le sexe et les antécédents de fumeur (Gouvernement du Québec, 2010), l'alcoolisme ou encore l'âge (Koivula, 1994). La maladie ne peut se contracter que par inhalation d'aérosols contaminés, générés par exemple au niveau du robinet, du pommeau de douche ou de la climatisation. Lorsqu'inhalés, les aérosols contaminés en *Lp* peuvent atteindre les alvéoles pulmonaires et développer une infection avec une période d'incubation de 2 à 10 jours. Tel qu'illustré par la Figure 1, le nombre de cas de légionellose aux États-Unis a quadruplé entre 2000 et 2014 (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & U. S. Department of Health and Human Services, 2016).

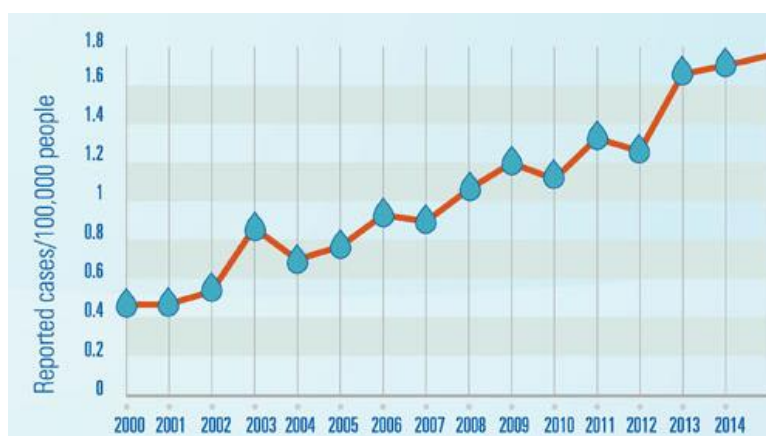


Figure 2.1: Nombre de cas rapportés de légionellose aux États-Unis entre 2000 et 2014 tiré de (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) & U. S. Department of Health and Human Services, 2016)

Cette augmentation du nombre de cas est notamment due à l'amélioration du suivi de la maladie : elle était peu répertoriée et peu connue il y a encore quelques années

Il n'existe pas de dose infectieuse connue pour *Legionella pneumophila*. Il existe cependant des résultats concernant un lien entre la dose d'exposition et le risque d'infection (Brown et al., 1999) et un modèle de risque a été développé pour prédire l'exposition à *Legionella* lors de la prise d'une douche (Schoen & Ashbolt, 2011).

2.2 Facteurs influençant le développement de *Legionella pneumophila*

Suite aux différents cas de légionellose déclarés dans les hôpitaux à travers le monde depuis l'éclosion à Philadelphia en 1976, plusieurs facteurs influençant le développement de la bactérie ont été mis en lumière.

2.2.1 Le régime thermique et hydraulique des réseaux d'eau chaude

Les régimes thermique et hydraulique sont intimement liés au développement des légionelles : lors d'une stagnation, la température peut chuter d'une vingtaine de degrés en 13 à 42 minutes selon l'isolation de la conduite (Fey, 2014). Cette température correspond à la plage optimale de développement des légionelles. La stagnation est un facteur important à considérer pour le développement de la bactérie *Legionella pneumophila* au sein des systèmes de distribution d'eau (Exner et al., 2005; Leoni et al., 2005). Dans l'étude menée par Leoni et al, la stagnation est notamment définie comme un des facteurs de développement de *Legionella pneumophila* au sein d'appartements à système centralisé (41.9% de positivité), d'hôtels (63.6% de positivité) et d'hôpitaux (100% de positivité). Le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé publié en 2011 au sujet de la qualité de l'eau dans les bâtiments souligne que des facteurs comme la stagnation, les faibles débits et une faible température peuvent augmenter les risques de contamination (World Health Organization (WHO), 2011). La stagnation et les faibles débits périodiques peuvent être dus à des bras morts, des conduites trop longues ou une mauvaise circulation tandis que le mauvais contrôle des températures peut aussi être causé par une déficience du chauffe-eau ou une mauvaise isolation (eau chaude qui se refroidit, eau froide qui se réchauffe) (World Health Organization (WHO), 2011). Bien que la stagnation soit soupçonnée d'être un facteur favorisant le développement de légionelles, une étude de laboratoire simulant types d'écoulements n'a pas pu démontrer qu'une plus grande concentration en *Lp* était présente en stagnation (Liu, Z. et al., 2006). En fait, il a été documenté récemment que ce sont les fortes variations de débit et un écoulement irrégulier qui étaient favorable au développement d'un biofilm plus compact et résistant, avec une plus grande diversité bactérienne (Douterelo, Sharpe, & Boxall, 2013). L'hypothèse émise par Liu et al. est que la présence ce période d'écoulement turbulent favorise le développement du biofilm en raison d'un plus grand taux de transfert de masse de nutriments vers le biofilm (Liu, Z. et al., 2006). Au contraire, une stagnation continue pourrait limiter la quantité d'oxygène et de nutriments nécessaires au bon développement du biofilm (Liu, Z. et al., 2006). La majorité des études

s'accordent à dire que les périodes de stagnation modifient la qualité microbienne de l'eau (Ciesielski, Blaser, & Wang, 1984; Lautenschlager, Boon, Wang, Egli, & Hammes, 2010; Manuel, Nunes, & Melo, 2010).

En ce qui concerne les températures de l'eau chaude, plusieurs études s'accordent sur le fait que le maintien de hautes températures est bénéfique contre le développement de *Legionella pneumophila* (Blanc et al., 2005; Darelid, Lofgren, & Malmvall, 2002; Ezzeddine, Van Ossel, Delmee, & Wauters, 1989). Cette méthode est aussi préconisée par la World Health Organization qui conseille de maintenir l'eau chaude à plus de 60°C et de faire circuler l'eau à 50°C ou plus dans le réseau (World Health Organization (WHO), 2011). Pareillement, l'eau froide devrait garder une température inférieure à 20°C. Enfin, l'American Society of Heating, Refrigerating And Air-Conditioning Engineers (ASHRAE) conseille depuis 2011 de conserver une température d'au moins 60°C en sortie du chauffe-eau et à 51°C à tous les points d'utilisation (BSR/ASHRAE, 2011). Ces températures ne permettent pas toujours de régler les problèmes de présence de légionelles car l'eau chaude ne se rend pas forcément jusqu'à tous les points d'utilisation à cause de bras morts ou de problèmes hydrauliques (Blanc et al., 2005). Cependant, l'augmentation de la température engendre une augmentation de la consommation en énergie au niveau du chauffe-eau et peut augmenter le risque de brûlures des usagers. Les personnes les plus touchées par les brûlures par l'eau chaude sont les personnes âgées et les enfants de moins de 5 ans. Bien que 2 minutes à une eau de 50°C soient requises pour qu'un enfant soit brûlé au 2^e degré (5 minutes pour un adulte), ce temps est réduit à 2 secondes pour un enfant à une température de 60°C (5 secondes pour un adulte). Aux États-Unis, cette inquiétude prend une grande place : la température dans les hôpitaux est limitée à 49°C aux points d'utilisation depuis 1984 (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2003). Au Québec, suite à des décès de personnes âgées dus à des brûlures par l'eau chaude, une obligation d'obtenir une température maximale de 43°C aux baignoires et douches dans les établissements de soins et les résidences pour aînés a été mise en place (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b). À cette fin, des dispositifs de régulation de la température sont installés sur les robinets et les douches. Cette pratique peut entraîner des risques accrus de contamination par *Legionella* des pommeaux de douches et des robinets en raison des températures (Dennis, Taylor, Fitzgeorge, Bartlett, & Barrow, 1982; Feazel et al., 2009). Dans l'étude présentée par P. J. Dennis en 1982, la température aux pommeaux de douche et aux robinets se place entre 40°C et 54°C et l'auteur

suppose que ces températures favorisent le développement spécifique de *Legionella pneumophila*. Enfin, l'étude développée par Völker et al. en 2016 suppose que le maintien seul de la température ne permet pas d'estimer correctement le risque lié aux légionelles, supposant ainsi l'impact d'autres facteurs (Völker, Schreiber, & Kistemann, 2016).

2.2.2 Les matériaux

Le choix de matériaux de plomberie a évolué selon les âges, selon les découvertes réalisées et les usages. Les matériaux naturels tels que la jute, le cuir, le caoutchouc naturel et le liège étaient plus largement utilisés jusqu'à ce que certains cas de contamination microbiologique de l'eau se déclarent (Burman & Colbourne, 1977; Schoenen, 1989). Dès les années 50, les plastiques se sont beaucoup développés pour leur poids, leur facilité d'usage et les multiples formes qu'ils peuvent prendre. Pourtant, des inquiétudes quant à leur capacité à modifier la qualité de l'eau potable ont commencé à être soulevées dans les années 70 (Burman & Colbourne, 1977). De façon indirecte, les matériaux sont capables de fournir des composés organiques favorisant le développement de bactéries soit par relargage ou par exposition à la surface (Colbourne, 1985). En plus de représenter un support pour le biofilm, certains matériaux peuvent altérer le goût, l'odeur et la couleur de l'eau.

Le latex et les plastiques ont été rapportés comme étant plus facilement colonisables par le biofilm (Colbourne et al., 1984; Rogers et al., 1994). Lors de son expérience, Rogers et al. ont observé 20x plus de colonisation en *Legionella pneumophila* sur le polyéthylène que sur l'acier inoxydable 4 jours après l'intégration de *Legionella* dans le biofilm. Le latex contient des nutriments qui encouragent le développement des bactéries et possède un pouvoir de colonisation 129x plus important que le verre pour *Legionella pneumophila* (Rogers et al., 1994). Rogers et al. ont aussi mis en lumière le relargage de carbone par les matériaux : le latex, éthylène-propylène et polyéthylène ont en moyenne relargué 150 mg C/L en 3 jours par rapport à 3 mg C/L pour le verre. Pour le moment, l'effet précis des plastiques et du latex sur *Legionella pneumophila* est peu compris. En 2006, le Royaume-Uni a interdit l'utilisation de l'éthylène propylène diène monomère (EPDM) pour la fabrication de tuyau tressé flexible (Health Facilities Scotland (HFS), 2009). Les nutriments qu'il dégage et sa rugosité en font, selon la Water Regulation Advisory Scheme (WRAS), une surface trop favorable pour l'installation du biofilm. De plus, ce matériau modifie la couleur et l'odeur de l'eau (Water Regulations Advisory Scheme (WRAS), 2006). Ce type de matériau a depuis été réautorisé, tant que l'EPDM utilisé est testé puis approuvé par la WRAS

(Water Regulations Advisory Scheme (WRAS), 2011). Sur le terrain, Colbourne a montré que seul le remplacement de tous les composants en caoutchouc des robinets et douches a réussi à supprimer *Legionella pneumophila* dans le système de façon durable (Colbourne et al., 1984). La souche de *Legionella pneumophila* retrouvée sur ces composantes était la même que celle responsable de la maladie diagnostiquée chez des patients. En règle générale, le latex, l'éthylène-propylène et le polyéthylène ne sont pas des matériaux recommandés pour les équipements hydrauliques si l'on souhaite minimiser le développement du biofilm et de *Legionella pneumophila*.

Le cuivre est aussi un matériau utilisé pour les conduites dans les établissements de santé. Le cuivre a des propriétés bactéricides qui à certaines concentrations, peut rendre les légionelles non détectable par culture. Cependant, l'effet du cuivre peut être seulement temporaire, tel que rapporté dans un systèmes où, les concentrations en *L. pneumophila* étaient les mêmes pour le cuivre, l'inox et le polyéthylène deux ans après la mise en fonction des conduites en cuivre (van der Kooij, Veenendaal, & Scheffer, 2005). Il est supposé que la fonction inhibitrice du cuivre a été réduite par l'effet de la corrosion.

2.2.3 Les points d'utilisations et leur environnement

Le type de points d'utilisation et leur environnement peuvent influencer la prévalence de légionelles dans l'eau.

Tout d'abord, la fréquence d'utilisation du robinet est un facteur considérable. Un robinet peu ou pas utilisé entraîne une stagnation prolongée qui peut favoriser le développement de biofilm. Situé à proximité d'une chambre ou d'une zone à risque, un robinet peu utilisé peut entraîner une contamination du réseau alentour. Une étude développée par Rhoads et al. en 2015 montre l'impact de rinçages plus ou moins fréquents (de 1 à 23 fois par semaine) sur des systèmes chauffés à une température fixée entre 39°C et 58°C sur une période de 15 mois (Rhoads, Ji, Pruden, & Edwards, 2015). Dans une eau à 39°C, *L.pneumophila* s'est développée 6.3 fois plus dans les robinets peu rincés par rapport aux robinets à forte utilisation. À 58°C, *L.pneumophila* se développait en moyenne 40 à 50 fois moins par semaine qu'à 39°C. À 58°C, la forte utilisation permettait d'obtenir 5 fois moins de légionelles en concentration par rapport au robinet peu utilisé. Ainsi, les robinets peu utilisés représentent un risque plus important de légionelles que les points plus utilisés.

La conception des conduites d'alimentation des points distaux a été démontrée comme pouvant jouer un rôle dans le maintien des températures. Une alimentation d'eau du bas vers le haut a été illustrée comme une configuration plus à risque (Rhoads, Pruden, & Edwards, 2016). En effet, un mélange convectif impose un gradient plus important entre l'eau qui se place naturellement à la température de la pièce dans la conduite verticale lors de période de stagnation et l'eau chaude alimentant les autres robinets. Au contraire, des conduites d'alimentation en eau allant du haut vers le bas n'induisent pas de mélange convectif. Ce mélange convectif induit une température un peu plus haute, idéale pour le développement des légionelles. Ainsi, il est souligné dans cette étude que les efforts de maintien de la température ont un impact réduit au niveau des points distaux lorsque la convection a lieu dans les conduites verticales.

Le type de robinet est aussi considéré comme un facteur pouvant promouvoir le développement des légionelles. Les robinets classiques, au design assez simple, ont été souvent remplacés par des robinets électroniques. Équipés de détecteur de mouvement, ils permettent au personnel médical et aux patients une utilisation sans contact. Ils réduisent aussi la consommation d'eau en raison d'un temps d'écoulement plus court, ce qui s'inscrit parfaitement dans une démarche d'économie des ressources (Boucher, Blais, & Vive en Ville, 2010). Enfin, ces robinets sont thermostatés ou à température mitigée et permettent de rencontrer les températures prescrites afin de minimiser le risque de brûlures (Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) & Gouvernement du Québec, 2009).

En 2012, une étude a comparé la contamination bactériologique entre robinets manuels et électroniques : 26% des échantillons d'eau prélevée sur des robinets électroniques montraient une augmentation des bactéries hétérotrophes aérobies, contre 13% pour les robinets manuels. Lors de cette même étude, 65% des robinets électroniques contenaient des *Legionella pneumophila*, contre 35% pour les robinets manuels (Sydnor et al., 2012). Cependant, il a été montré que les robinets électroniques disposant d'une petite zone de mélange et au design simple n'étaient pas plus contaminés que les robinets conventionnels en *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie opportuniste se retrouvant dans les systèmes de distribution, (Charron, Bédard, Lalancette, Laferrière, & Prévost, 2015). L'étude souligne en revanche que la concentration est plus grande dans le premier volume : c'est à ces premiers 50 mL que seront exposés les patients et personnel. Dans le cas d'un robinet conventionnel, le premier 50 mL est souvent rincé pendant que la personne ouvre le robinet. Cette inquiétude pourrait facilement s'étendre à *Legionella pneumophila*. De plus, les robinets

électroniques sont souvent munis de clapets anti-retour peu résistants à l'usure. Ces clapets ont tendance à rapidement se briser ou à s'obstruer suite à des changements rapides de pression ou à l'accumulation de particules. Pour éviter les mélanges entre l'eau chaude et froide, il est conseillé de rajouter des clapets supplémentaires sur les conduites de connexion d'eau chaude et froide au point d'utilisation (République Française & Ministère de la Santé et des Solidarités, 2005).

2.3 Recommandations internationales et leviers d'action pour le contrôle des légionelles

2.3.1 Seuils d'alerte et d'action

Dans le but de minimiser le risque d'infection par *Legionella*, de nombreuses recommandations et réglementations sont en place au niveau international. Le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** résume les différents seuils définis par certains pays européens. Deux seuils ont été définis en Angleterre: un seuil d'alerte placé entre 100 et 1000 UFC/L et un seuil d'action, pour tout résultat microbiologique supérieur à 1000 UFC/L (Health and Safety Executive (HSE), 2013). La plupart des pays définissent le seuil d'alerte entre 100 et 1000 UFC/L. Le seuil d'action est souvent placé à 10 000 UFC/L (Tableau 1). Les actions à mettre en place lorsque les seuils d'alerte et d'action sont atteints sont aussi définis par d'autres pays comme l'Autriche, la France, l'Allemagne, l'Italie, le Royaume-Uni et la Suisse ont défini (Austrian Standards Institute, 2007; DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004; Health and Safety Executive (HSE), 2013; Regiona Assessorato alla Sanità, Ministero della Sanità Dipartimento della Prevenzione, & Istituto superiore di Sanità Registro Nazionale delle Legionellosi, 2002; République Française, 2005).

2.3.2 Hausse et maintien des températures

Les températures de l'eau jouant un rôle clé dans le développement des légionelles, il est d'abord primordial que le réseau de distribution de l'eau soit bien équilibré et maintienne les températures jusqu'aux points distaux (Health and Safety Executive (HSE), 2013; République Française, 2010a). Cet équilibre du réseau évite les pertes de températures et réduit la formation de biofilm dans le réseau (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Les équipes techniques du

bâtiment devraient avoir une bonne connaissance du réseau afin de rapidement pouvoir identifier les bras morts et les zones d'entartrage ou de corrosion. La majorité des recommandations internationales s'accordent à dire que la température en sortie de chauffe-eau devrait être gardée en tout temps à au moins 60°C et celle de la recirculation à 55°C dans tout le réseau (Bédard, Boppe, et al., 2016)). Des pertes de moins de 5 degrés entre l'eau chaude et la recirculation devraient ainsi être enregistrées. Afin de maintenir cet écart de température, une vitesse minimum d'écoulement de 0.2 m/s devrait être respectée dans les conduites (Castex & Houssin, 2005). Cependant, il est conseillé de choisir la plus grande valeur de débit entre celle qui permet de limiter la perte de chaleur à 5°C et celle qui assure une vitesse de 0.2 m/s (Castex & Houssin, 2005).

Dans le cas où une contamination serait déclarée, une désinfection choc est souvent requise pour abaisser rapidement le niveau de *Legionella* dans le réseau. La désinfection choc thermique a déjà été utilisée dans plusieurs hôpitaux : elle consiste à augmenter la température de consigne du chauffe-eau et de faire écouler une eau à cette température pendant plusieurs minutes à tous les points d'usage. La WHO recommande une désinfection pendant 30 minutes à 70°C à tous les points d'usage tandis que la Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) propose d'augmenter la température à la sortie du chauffe-eau entre 71°C et 77°C (Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) et al., 2003). Selon l'organisation, cette température devrait être maintenue le temps de rincer tous les points d'usage pendant un temps minimum de 5 minutes. La désinfection thermique permet de faire diminuer temporairement la concentration en *Legionella pneumophila* mais des cas de recontamination et de développement de résistance à la température ont été répertoriés (Allegra et al., 2011; Mòdol et al., 2007). Dans leur étude, Allegra et al. ont montré que l'utilisation de chocs thermiques dans un réseau d'eau chaude avait entraîné le développement d'une résistance à la température et qu'un pourcentage important de légionelles subsistait dans l'eau après 30 minutes de désinfection à 70°C. Lors de cette étude, il a pourtant été remarqué que les circuits A et D, qui étaient soumis à peu de chocs thermique ou à une chloration, étaient plus susceptibles de faire diminuer le pourcentage de légionelles viables comparativement aux deux autres circuits, soumis à des chocs thermiques répétitifs.

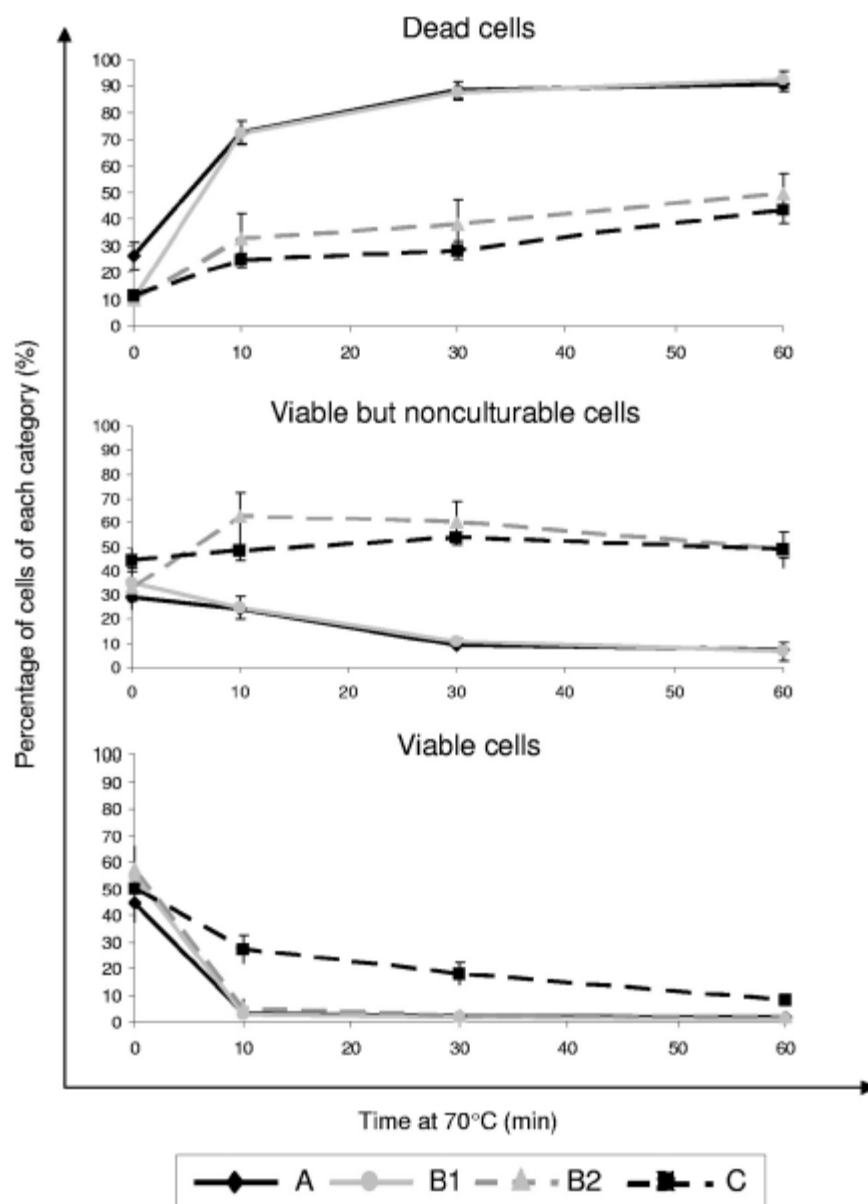


Figure 2.2 : Viabilité de *Legionella pneumophila* sérotype 1 en fonction du temps, pendant une désinfection à 70°C, tirée de (Allegra et al., 2011). Chaque lettre correspond à un réseau d'eau étudié.

En complément de ces résultats, une étude sur 4 bâtiments contaminés en légionelles a montré une recolonisation rapide des systèmes après 2 à 4 semaines de désinfection thermique, à raison de deux rinçages par jour de tous les robinets à une température entre 60°C et 70°C (Zacheus & Martikainen, 1996). Quatre mois après le retour d'une température de 55°C au chauffe-eau, l'ensemble des systèmes était de nouveau contaminé.

2.3.3 Désinfections chimiques

La désinfection choc peut aussi se faire à l'aide de désinfectants chimiques. Il peut être difficile voire impossible dans certains réseaux d'eau chaude d'utiliser la désinfection choc thermique. En plus de la difficulté de maintenir la température dans le réseau à 70°C, il est primordial de s'assurer que l'eau chaude se rende à cette température jusqu'à l'ensemble des points d'usage pour être efficace. Si la désinfection thermique ne peut pas être effectuée correctement, il est alors conseillé de procéder à un choc de chloration, si possible de nuit (Heathcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) et al., 2003). Si besoin, une chloration du chauffe-eau ou du réservoir peut avoir lieu à une concentration comprise entre 20 et 50 mg/L. Le pH ne doit pas sortir de l'intervalle 7.0-8.0 (Heathcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) et al., 2003). Lors d'une désinfection, un dosage de 50 mg/L de chlore devrait être réalisé pendant au moins une heure (Health and Safety Executive (HSE), 2013). A la fin de cette heure, un résiduel de chlore de 30 mg/L devrait subsister (Health and Safety Executive (HSE), 2013). Quelle que soit la ou les méthodes choisies pour la désinfection, une déficience hydraulique prévenant le maintien des température et donc la bonne circulation de l'eau empêchera de faire diminuer à long terme la concentration en bactérie du système (Ezzeddine et al., 1989).

À l'instar du régime thermique, une désinfection chimique en continu peut aussi être appliquée dans un réseau d'eau de grand bâtiment. Dans le cas du chlore, si le système est exempt de biofilm, une concentration en chlore résiduel comprise entre 0.5 mg/L et 1 mg/L doit être maintenue au point d'utilisation (Health and Safety Executive (HSE), 2013). La complémentarité des 2 méthodes (augmentation de la température et de la concentration de chlore) a déjà fait ses preuves et a permis, entre autres, de ne plus détecter de *Legionella pneumophila* dans le réseau concerné (Colbourne et al., 1984). Dans une étude menée par Muraca et al., il a été observé que la désinfection par le chlore était plus efficace lorsque jumelée à une température plus élevée : la mort des légionelles était plus rapide et complète dans une eau chlorée à 45°C qu'à 25°C (Muraca, Stout, & Yu, 1987). Le désavantage est la nécessité de doser plus de chlore (dans l'étude, 6 mg/ de chlore libre résiduel au lieu de 4) D'autres désinfectants tels que la monochloramine et le dioxyde de chlore peuvent être utilisés. La monochloramine a déjà montré une bonne efficacité sur le contrôle de la qualité bactériologique d'une eau (Baron, Vikram, Duda, Stout, & Bibby, 2014; Marchesi, I. et al., 2012). Le dioxyde de chlore a été démontré comme efficace sur *Legionella pneumophila* à une concentration entre 0.5 et 0.7 mg/L (Mustapha et al., 2015). Pourtant, il est aussi souligné dans

cette étude que ce désinfectant, comme les chocs thermiques à répétition, induisent un état VBNC qui pourrait faire ressusciter *L.pneumophila* (Mustapha et al., 2015)

L'ionisation cuivre-argent est une méthode de désinfection aussi utilisée (Barbosa & Thompson, 2016; Chen et al., 2008; Kusnetsov, Iivanainen, Elomaa, Zacheus, & Martikainen, 2001). La plage de concentrations recommandée est de 0.2-0.8 mg/L pour les ions cuivre et 0.02-0.08 mg/L pour les ions argent (Lin, Stout, & Yu, 2011). Cependant, une étude a montré que la présence de *Legionella* a diminué lorsque la concentration de cuivre a dépassé 0.4 mg/L tandis que la concentration en argent restait inférieure à 0.04 mg/L (Liu, Z. M. et al., 1998). Lorsque la désinfection par ionisation cuivre-argent est utilisée, il est recommandé de vérifier les concentrations en ions une fois par semaine à l'alimentation en eau et une fois par an à des points cibles du système (Department of Health (DH) & Estates and Facilities Division, 2006). Des échecs du système d'ionisation cuivre-argent sont aussi documentés. En Allemagne, une baisse drastique de la concentration en *Legionella pneumophila* a été observée la première année suivant l'implantation de l'ionisation cuivre-argent, une augmentation de la colonisation du système par *Lp* a été observée dans les trois années qui ont suivi, en dépit d'une augmentation de la concentration en ions argent (Rohr, Senger, Selenka, Turley, & Wilhelm, 1999). Les concentrations utilisées étaient toutefois inférieures aux recommandations, ce qui explique peut-être l'échec de leur système. Blanc et al. ont rencontré le même problème, dû à une législation en Suisse qui interdit de dépasser la limite de 0.01 mg/L d'ions argent dans l'eau potable (Blanc et al., 2005). Plus récemment, une épidémie de légionellose a été reportée aux États-Unis dans un hôpital pour vétérans, et ce malgré la mise en place d'une désinfection au cuivre-argent depuis une dizaine d'années (Demirjian et al., 2015). Avec une concentration de cuivre et d'argent aux robinets respectivement de 0.14-0.4 mg/L et 0.01-0.07 mg/L, tous les robinets testés pour *Legionella* étaient positifs. L'hypothèse d'une résistance des légionelles aux ions cuivre-argent est défendue par certaines études (Rohr et al., 1999). De façon générale, les concentrations nécessaires à une bonne désinfection étant variables et parfois incompatibles avec la législation, il est recommandé de ne pas utiliser de façon systématique cette méthode de désinfection dans les hôpitaux qui comptent parmi leurs patients des personnes immuno-supprimées (Liu, 1998).

Tableau 2.1: Actions et risque associés à la concentration de Legionella pneumophila selon les différents pays

Concentration en Lp (UFC/L)	Actions	Risque associé	Pays : Référence
>10 ; $<10^2$	Mesures correctives individuelles selon le risque d'infection du patient	Faible	Autriche : (Austrian Standards Institute, 2007)
$>10^2$; $<10^3$	Entretien et surveillance réguliers	Faible	France : (République Française, 2005)
	Si majorité des échantillons négative : deuxième échantillonnage à l'échelle du système. Si résultat confirmé : mise en place de mesures de contrôle Si majorité des échantillons positive : considérer une désinfection du système et mise en place immédiate des mesures de contrôle	Modéré	Angleterre : (Health Safety and Executive (HSE), 2013)
	Réexaminer la contamination en l'espace de 4 semaines	Modéré	Allemagne : (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004)
	Réhabilitation nécessaire. Mesures d'urgence à effectuer individuellement	Modéré	Autriche : (Austrian Standards Institute, 2007)
$>10^3$; $<10^4$	En absence de cas clinique : augmenter de la surveillance clinique, notamment des patients à risque. Éviter d'utiliser l'eau du système pour les douches et ablutions qui pourraient créer des aérosols. Répéter fréquemment les échantillonnages En présence de cas cliniques : adopter immédiatement les mesures préventives et curatives. Procéder à une désinfection.	Modéré : cas sporadiques	Italie : (Regiona Assessorato alla Sanità et al., 2002)
	Le système doit être échantillonné une deuxième fois, quelques jours après. Les mesures de contrôle doivent être immédiatement étudiées, incluant une possible désinfection du système. D'autres échantillonnages doivent être faits rapidement jusqu'à l'atteinte d'un risque faible.	Élevé	Angleterre : (Health and Safety Executive (HSE), 2013)

Tableau 2.1 : Actions et risque associés à la concentration de *Legionella pneumophila* selon les différents pays (suite)

	Le besoin de réhabilitation dépend du résultat d'un deuxième échantillonnage : $<10^2$: aucune mesure, examen 1 an plus tard $\geq 10^2$: réhabilitation à moyen terme, examen 1 semaine après la désinfection ou la réhabilitation, examen plus détaillé 1 an après $>10^3$: réhabilitation à court terme, examen 1 semaine après la désinfection ou la réhabilitation, examen plus détaillé 3 mois après $>10^4$: le danger doit être immédiatement paré (désinfection et restriction d'emploi, par ex. interdire les douches). Réhabilitation nécessaire	Élevé	Allemagne : (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004)
	Comprendre la cause, informer le personnel de la gestion de l'eau, mise en œuvre de moyens de limitation de la concentration en légionelles (détartrage, purge, travaux), renforcement de la surveillance des paramètres physiques et microbiologiques	Élevé	France (République Française, 2005)
	Assainissement immédiat	Élevé	Autriche : (Austrian Standards Institute, 2007)
$>10^4$	Mettre en place immédiatement les mesures de décontamination : choc thermique ou hyperchloration. Prévoir un deuxième échantillonnage	Très élevé	Italie : (Regiona Assessorato alla Sanità et al., 2002)
	Le danger doit être immédiatement paré (désinfection et restriction d'emploi, par ex. interdire les douches). Réhabilitation nécessaire	Extrêmement élevé	Allemagne (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004)
	En fonction de l'analyse bénéfice/risque au cas par cas, supprimer les usages à risque (bains bouillonnants, douches) et limiter l'exposition aux aérosols. Mettre en œuvre actions curatives (nettoyage et désinfection, purgée, montée en température). Informer les malades et leur donner des conseils. Prévoir d'autres échantillonnages de suivi.	Très élevé	France : (République Française, 2005)

Tableau 2.1 : Actions et risque associés à la concentration de *Legionella pneumophila* selon les différents pays (suite)

	Restriction immédiate de l'utilisation des points à risque (douches par exemple). Réhabilitation nécessaire	Très élevé	Autriche : (Austrian Standards Institute, 2007)
--	---	------------	---

CHAPITRE 3 DÉMARCHE DU PROJET DE RECHERCHE

Ce chapitre permet de présenter la démarche du projet de recherche et sa logique dans le déroulement des étapes. La démarche du projet est notamment articulée autour de l'étude de deux hôpitaux. L'étude de ces hôpitaux, aux problèmes comparables a pu apporter des réponses aux objectifs spécifiques du projet. L'ensemble du projet a permis de publier un article, d'être coauteur d'un second et de proposer des recommandations concrètes aux établissements de santé quant au régime hydraulique et aux actions à mettre en œuvre pour contrôler le risque en légionelles.

3.1 Caractérisation du régime hydraulique : suivi en continu des températures et des débits

Un diagnostic thermique du réseau d'eau chaude domestique a été effectué dans les ailes jugées les plus critiques des établissements. Ces ailes sont alimentées par des systèmes d'eau chaude indépendants incluant chacun un chauffe-eau et une boucle de recirculation. Les systèmes sont alimentés par la source d'eau froide de la ville. Le diagnostic a été effectué par étapes, en débutant par la boucle de circulation principale de chacune des ailes, pour ensuite étudier les boucles secondaires et enfin, évaluer les points d'utilisation.

3.1.1 Diagnostic de la boucle principale de recirculation

Afin d'évaluer la performance de la boucle principale, les températures en sortie de chauffe-eau ainsi qu'au niveau de la recirculation ont été enregistrées en continu. Ceci a eu lieu entre l'hiver 2013 et l'été 2016 pour le premier hôpital et entre février et juillet 2015 pour le deuxième hôpital. Le but était de s'assurer que le chauffe-eau alimentait l'hôpital à une température satisfaisante en continu et que l'eau recirculée ne connaissait pas de diminution trop importante dans sa température par rapport à l'eau chaude. Ce suivi permet d'avoir une idée générale de la répartition des températures dans ces réseaux.

3.1.2 Diagnostic des boucles secondaires

Après avoir établi que les températures dans les boucles principales respectaient les températures de consigne, le diagnostic s'est poursuivi dans les boucles secondaires de chacun des établissements, où des sondes de température et des débitmètres étaient installés. L'objectif était

de détecter les zones de pertes de chaleur qui ne seraient pas visibles en analysant seulement la boucle principale de circulation. Les pertes thermiques au niveau des boucles secondaires peuvent être calculées de la même façon que pour la boucle principale. Ce suivi avait pour but de détecter des zones de stagnation dans les tuyaux, une isolation inadéquate, des vitesses de circulation insuffisantes, une absence de recirculation, des inversions de sens de la circulation de l'eau, une hydraulique déficiente suite à des travaux accumulés au fil des ans ou bien encore une intrusion d'eau froide. Le placement des sondes pour chacun des deux établissements est développé dans les chapitres 3 et 4. Ces suivis ont permis d'orienter les échantillonnages en *Legionella pneumophila*.

3.2 Caractérisation des points d'utilisation

Afin de compléter le diagnostic du système d'eau chaude des ailes 5 et 6, une évaluation des points d'utilisation a été faite en trois étapes : caractérisation du point d'utilisation et de sa connexion, génération d'un profil de température et évaluation des concentrations en ions cuivre et, pour le deuxième hôpital doté d'un ionisateur, argent. La caractérisation a notamment permis de relever les matériaux de raccordement, la fréquence d'utilisation du robinet (qui influe sur la stagnation), le type de robinet (conventionnel, pédale, électronique). Les profils de température qui évaluent la température de l'eau chaude en fonction du volume écoulé permettent d'identifier la localisation et l'étendue des zones de plus faible température. Ils permettent aussi d'évaluer la vitesse à laquelle la température augmente et la température maximum atteinte. Les recommandations en Angleterre visent 55°C après 1 minute d'écoulement, équivalent à environ 6 litres écoulés (Health and Safety Executive (HSE), 2013). Les résultats sont disponibles dans l'article et le chapitre 4.

3.3 Prévalence de *Legionella pneumophila* : échantillonnage d'eau aux points d'utilisation et au système

Tous les robinets pour lesquels un profil de température a été établi ou qui ont été échantillonnés pour la détection de *Lp* ont été caractérisés. Chaque établissement a été échantillonné à plusieurs endroits du système, allant de l'eau recirculée avant le chauffe-eau jusqu'aux points d'utilisation les plus à risque. Chaque échantillon d'eau a été analysé par méthode de culture et par réaction en chaîne polymérase quantitative (qPCR) par le Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ). Les résultats sont disponibles dans l'article et dans le chapitre 4.

3.4 Mise en place de mesures curatives et suivi de l'évolution de la contamination en légionelles

Suite à l'analyse du risque selon les résultats de températures, débits et d'échantillonnage en légionelles, des recommandations spécifiques à chaque établissement ont été proposées par l'équipe. Un suivi de ces mesures a été mis en place dans les hôpitaux. Les recommandations et leçons tirées de ce projet sont disponibles dans le chapitre 5.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1: INVESTIGATIVE APPROACH TO IMPROVE HOT WATER SYSTEM HYDRAULICS THROUGH TEMPERATURE MONITORING TO REDUCE BUILDING ENVIRONMENTAL QUALITY HAZARD ASSOCIATED TO LEGIONELLA

Inès Boppe¹, Émilie Bédard¹, Catherine Taillandier¹, Daphné Lecellier², Marc-André Nantel-Gauvin³, Manuela Villion⁴, Céline Laferrière⁵, Michèle Prévost¹

¹Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Polytechnique Montréal, C.P.6079, succ. Centre-ville, Montréal, QC, H3C 3A7, Canada.

²École Polytechnique, Route de Saclay, 91128 Palaiseau Cedex, France.

³ Department of Construction Engineering, École des technologies supérieures, 1100, rue Notre-Dame Ouest, Montréal, QC, H3C 1K3, Canada.

⁴Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2700 rue Einstein, bureau E-2-220, QC, G1P 3W8, Canada. MV : manuela.villion@mddelcc.gouv.qc.ca

⁵ Department of microbiology, infectiology and immunology, Université de Montréal, CP. 6128, succ. Centre-ville, Montréal, QC, H3C 3J7, Canada

HIGHLIGHTS

- Unbalanced hydraulics resulted in temperature losses and increased *Legionella* risk
- Adding secondary recirculation pumps can lead to local flow inversions
- An investigative approach is proposed to improve hot water system hydraulics
- Selection of sampling points in unbalanced system should be based on temperature
Legionella contamination significantly reduced after hydraulic corrective measures

ABSTRACT

Several countries have promulgated control measures and design guidelines to limit the proliferation of *Legionella* within hot water distribution systems (HWDS). However, there is little

information on how to assess and improve existing HWDS unable to maintain 55°C throughout the system. A 50-year old hot water system of a 10 story hospital was investigated in terms of temperature distribution and *Legionella pneumophila* prevalence. Concentrations of *L. pneumophila* were correlated with the maximum temperature reached at the tap, with a significant decrease observed at $T \geq 55^{\circ}\text{C}$. Continuous temperature and flow monitoring was performed on the overall HWDS, characterizing the principal and secondary horizontal return loops for all 9 wings, and detailed investigations of the secondary vertical return loops was completed in Wing 3. Results indicated the system inability to systematically maintain desired operating temperatures of 55°C. The deficient hydraulic distribution was the root cause of the poor temperature maintenance throughout the secondary loops, but defective devices were also identified as playing an important role in sectorial temperature failure. A simple stepwise investigative approach was developed to identify hydraulic deficiencies. The implementation of flow restrictions on identified recirculation loops and increased pumping efficiency was conducted within a short period of 2 months, with no major system upgrade. These corrective measures resulted in a balanced system with increased flow velocities (>0.2 m/s). As a result, the proportion of taps achieving 55°C within 2 minutes increased from 11% to 74% and *L. pneumophila* prevalence decreased from 93.1% to 46.1% after 4 weeks.

Keywords: *Legionella pneumophila*, infectious disease, drinking water, hot water distribution system, hydraulic balancing

4.1 INTRODUCTION

Proliferation of *Legionella pneumophila* in water distribution systems causes an important number of infections with high mortality levels (Bartram et al., 2007) estimated to cost 33 366 \$US per hospitalization in the United States (Collier et al., 2012). In the United States, between 2011 and 2012, *Legionella* was responsible for 66% of drinking-water associated infectious outbreaks

((CDC), 2015). The presence of *Legionella* in hot water distribution systems from large buildings can lead to environmental quality issues, especially within healthcare settings. Immuno-compromised patients and vulnerable population can be exposed to *Legionella* via the inhalation of contaminated aerosols generated by equipment such as showers, faucets, air-cooling towers and toilets (Hines et al., 2014). Premise plumbing from large buildings often provide multiple favorable conditions for the development of biofilm and *L. pneumophila* (Buse, Schoen, & Ashbolt, 2012). Biofilm offers protection against disinfection and can harbor amoebas, a growth vector for *L. pneumophila* (Fields et al., 2002). The presence of stagnation related to dead legs or inadequate system hydraulic balancing also reduces the disinfectant efficiency in these areas (Thomas et al., 2004). In addition, bacteria exposed to sub-optimal disinfection and low nutrient environmental conditions can enter a viable but not culturable state (VBNC). Although undetected by standard culture methods (Li et al., 2014), VBNC cells can recover culturability when they are provided with favorable conditions (lower water temperature, loss of disinfectant, presence of biofilm) (Kilvington & Price, 1990) (García, Jones, Pelaz, Millar, & Abu Kwaik, 2007).

Several regulations, guidelines and recommendations identify design, operating conditions and monitoring frequency required in hot water distribution systems to prevent and control the proliferation of *L. pneumophila* (Bédard et al., 2015). Typically, they include control measures such as maintaining a water temperature $\geq 60^{\circ}\text{C}$ at the outlet of the water heater and $\geq 55^{\circ}\text{C}$ in the main recirculation loop (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012; Health and Safety Executive (HSE), 2013). Furthermore, a temperature of at least 55°C should be maintained in the HWDS and reached within 1 to 2 minutes of flushing at each point of use (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012; Health and Safety Executive (HSE), 2013; The European Working Group for Legionella Infections (EWGLI), The European Commission, & The European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC), 2011; World Health Organization (WHO), 2011). Extended periods of stagnation and the presence of dead legs should be avoided and minimal water velocity should be maintained at all times within the recirculation pipes. A French technical guideline suggests to define the minimum water velocity as the greatest value between 0.2 m/s and the velocity required to maintain heat loss below 5°C (Castex & Houssin, 2005; Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). However, the maximum water velocity suggested is 0.5 m/s to protect the pipes from premature wear.

Periodic monitoring is required to confirm that the control measures described previously are efficient to maintain *L. pneumophila* load below action and alert levels. In European countries like Austria, France, Germany, Netherlands and United Kingdom, periodic monitoring of *Legionella* and temperature is mandatory with a frequency varying from continuous to weekly or annually depending on the parameters, the risk classification and the location of the point of use (Austrian Standards Institute, 2007; Dutch Working Party Infection Prevention, 2007; DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004; Health and Safety Executive (HSE), 2013; République Française, 2010a). Results from the periodic monitoring are interpreted against established target levels that vary between 1 000 and 10000 CFU/L, above which corrective and preventive actions should be undertaken to reduce the risk of infection (Austrian Standards Institute, 2007; DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004; Government of South Australia et al., 2013; Health and Safety Executive (HSE), 2013; Office fédéral de la santé publique, 2008; Regiona Assessorato alla Sanità et al., 2002; République Française, 2010a). While maintaining temperatures is considered the first line of defense to limit the growth of *L. pneumophila*, complete eradication is often not possible, especially in systems already contaminated or where adequate control conditions cannot be maintained throughout the systems (Blanc et al., 2005; Hrubá, 2009). A single piece of deficient equipment can influence the hot water temperature distribution within an entire wing, causing hot water temperature decrease in those sectors (Bédard et al., 2015).

The *Legionella* risk associated to a large building HWDS can be evaluated using a temperature-based diagnostic approach (Bédard et al., 2015). Systems that are unable to maintain control temperatures at the point of use despite adequate water heater temperatures are considered at risk and hydraulically deficient. A hot water system that is not hydraulically balanced can lead to higher flowrates in loops with lower head loss and poor circulation or even stagnation in high restriction loops. There are few methodologies that are proposed to perform a detailed assessment of hydraulic deficient areas within an existing HWDS. A technical document suggests the investigation of the following issues: valve obstructions (leading to stagnation or reduced water velocity within the return loop), the type of control elements installed, the recirculation pump design/operation or the lack of balancing between the different secondary flow and return loops (Castex & Houssin, 2005; Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Applied investigation approaches are

needed to identify corrective actions and ensure an adequate first line thermal control for *Legionella*.

This study presents an investigation approach to evaluate and correct the hydraulics of an existing hot water system based on detailed thermal monitoring. This approach can be implemented promptly to obtain required temperatures at points-of-use as well as recommended minimal flow velocities. The objectives of this study were to: 1) identify malfunctioning zones in the water distribution network using temperatures and flowrates analysis 2) quantify the impact of unfit equipment (pump, faucets, showers) on temperatures and flowrates within a sector of the HWDS 3) propose an investigative procedure to identify and correct the causes of inadequate temperature distribution and 4) investigate the effect of distal temperature on the prevalence and concentrations of *Legionella* and *L. pneumophila*.

4.2 METHODS

4.2.1 Description of the study site

The study was conducted prospectively, in absence of nosocomial cases of legionellosis in a 450-bed healthcare facility in Québec, Canada. The hot water system investigation was conducted using a temperature diagnostic approach (Bédard et al., 2015). The 50-year-old hospital is supplied with treated chlorinated surface water. The main hot water network supplies water to nine 10-story

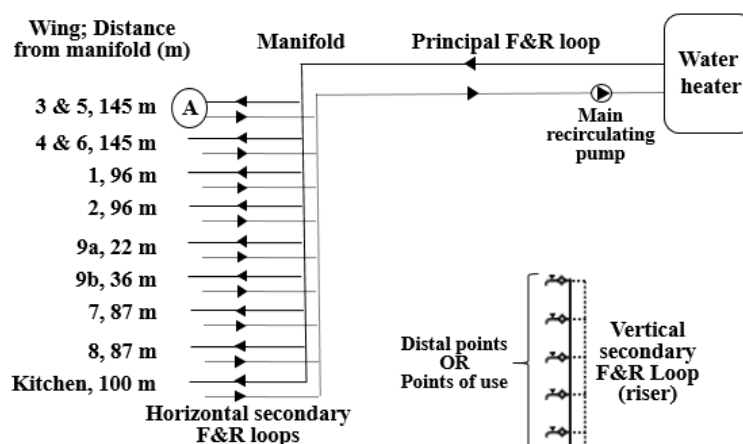


Figure 4.1 : Hot water distribution system schematic, including pumps location, wing(s) supplied by each horizontal secondary flow and return (F&R) loops, distance from the manifold, and riser configuration within Wing 3

wings and copper piping (type K) is the material used for all principal, secondary and tertiary flow and return loops (Bédard et al., 2015). Copper and flexible braided elastomeric hoses are used for connecting pipes at points of use. Hot water is produced by a steam heat exchanger with a temperature set point of 60°C. The HWDS has a vertical architecture where the main horizontal flow and return loop supplies water to each wing through horizontal secondary flow and return loops, that feed water to between 9 and 21 secondary vertical flow and return loops depending on the wing (Figure 4.1). There are 2 to 4 equipments connected on a riser at each floor and each equipment is connected on the recirculation loop (Bédard et al., 2015). A detailed study of the secondary and tertiary hot water distribution systems was carried out in Wing 3, supplied by 10 risers. This wing was selected for detailed investigation due to recurrent user complaints about hot water temperatures being unusually low at the point-of-use.

4.2.2 Water sampling approach for *L. pneumophila* and physico-chemical evaluation

A one-liter sample of water was collected at the water heater outlet and on the principal return loop pipe after cleaning the sampling port was cleaned with alcohol and ultrapure water, flushing for one minute. at selected points of utilization (showers, foot-operated and manual faucets). For points of use, the first liter of hot water was collected into sterile polypropylene bottles from taps and showers. No prior cleaning or flushing were carried out in order to get a sample representative of the point of use. In total, 29 points of use were selected for sampling, of which 17 were located in Wing 3. Microbiological sampling was conducted once in Wing 3 prior to the implementation of corrective measures. The water heater outlet, recirculation loop and the points of utilization throughout the hospital were sampled twice prior to and once 4 weeks following the implementation of corrective measures. Water samples were cultured according to the quantitative method AFNOR NF T90-431 *Legionella* procedure (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2014). Different volumes of water were filtered through sterile 47 mm diameter and 0.45 µm mixed ester cellulose membranes (Millipore, Germany) and an acid untreated sample volume of 0.2 mL were plated on Glycine-Vancomycin-Polymyxin-Cycloheximide (GVPC) selective agar (Biokar diagnostics, France). Before plating, acid treatment was applied to filtered samples (pH = 2; 5 min). All plates were then incubated at 36 °C for 10 days. Typical colonies that developed after 4-10 days were sub cultured on confirmation plates for 2 to 4 days at 36 °C.

Resulting colonies that developed on BCYE agar, but not on BCYE without cysteine, were considered as *Legionella* spp. The *Legionella* latex test (M45, Microgen bioproducts) was used for *L. pneumophila* confirmation. The detection limit for the culture method was 10 CFU/L for both *Legionella* spp. and *L. pneumophila*. Water physico-chemical parameters were evaluated for each tap at each sampling event using 500 mL collected immediately after the first liter. The following parameters were evaluated on-site: pH, dissolved oxygen, free and total chlorine, turbidity and temperature. Residual and total chlorine were measured using a Pocket Colorimeter™ II (Hach, Loveland, CO, USA), turbidity with a Hach 2100Q (Hach, Loveland, CO, USA) while pH and dissolved oxygen were measured using a Hach Multi-Parameter HQ40d tool with a pH probe PHC301 and dissolved oxygen probe LDO101 (Hach, Loveland, CO, USA).

4.2.3 Continuous measurements across the hospital and temperature profiles

Temperature at the water heater outlet as well as cold and hot water pressures were monitored at all times by the hospital building management system at 5-minute intervals. In addition, water flow rates and temperatures were recorded in selected locations throughout the system at 5-minute intervals using non-intrusive portable ultrasonic flowmeters (Greyline PTFM 1.0) and portable datalogger RDXL4SD with self-adhesive thermocouples SA1XL (Omega, Laval, QC, Canada). Water flow rates were monitored between 2016/03/24 and 2016/04/08 on the horizontal secondary pipe and at the base of hot water risers located in Wing 3. Temperature was monitored at the inlet of each wing (03/18 to 03/22 and 05/06 to 05/16) and at the base of each secondary vertical flow and return loop (riser) in Wing 3 (01/10 to 01/16 and 05/17 to 05/22). All the monitoring points were located at the lowest building level. The dataloggers had a 0.1°C resolution and an accuracy of $\pm 0.4\% + 0.5^{\circ}\text{C}$.

Temperature profiles were carried out between 2012 and 2016 in all wings of the hospital, to determine the temperature evolution as a function of flushed water and the maximum temperature reached. The temperature was measured in 250 ml polypropylene bottles for the first half-liter, in 500 ml bottles between the first and the second liters, and in 250 ml bottles for the remaining profiles, for a total duration of 20 min.

4.2.4 Detailed investigation of shower valves

Trials were conducted from 2016/03/24 to 2016/04/08 on 4 shower mitigating valves periodically allowing integrity breach between hot and cold water systems and one control shower where no breach was possible. All showers were located in Wing 3, seven floors above the secondary horizontal pipe and each supplied by different risers (Figure 4.1). In addition to the temperature control knob on the mitigating valve (Figurea), the tested showers had separate valves to control the water supply to the shower head and to the lower faucet (Figure).

In this type of shower equipment, water flow can be interrupted by closing the lower faucet control knob and the shower faucet control knob while leaving the mitigating valve opened, thus creating a connection or integrity breach between the hot and cold water systems. Hot water temperature and flow rate were recorded at 5-minute intervals at the bottom of each associated riser using devices described in section 2.3. The temperature was also monitored for corresponding return pipes and on the horizontal secondary flow and return loop feeding into Wing 3. During the trial, the shower mitigating valve was opened from 03/25 to 03/28 (water flow interrupted through the lower faucet and shower faucet control knobs), and again, from 04/01 to 04/04. The mitigating valve was closed appropriately from 03/29 to 03/31, although only periodical control could be ensured after shower usage by patients. Design of the control shower did not allow mixing of hot and cold water.

4.2.5 Statistical analysis

Statistical analysis (Kruskal-Wallis and multivariate adaptative regression spline [MARSpline]) were performed with Statistica10 (StatSoft). Culture results for *L. pneumophila* were considered as non-parametric. MARSpline regression is a nonparametric analysis in which continuous, categorical, and nominal variables are considered to define a predictive equation with the best fit between predicted and observed data. The Kruskal-Wallis test was used to determine if there was a significant change in levels of *L. pneumophila* contamination before and after the interventions, and to evaluate if there was a statistical difference in level of *L. pneumophila* between the different temperature groups. Results were considered significant if $p \leq 0.05$.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1 Monitoring of temperature in the HWDS

Temperature distribution in the primary and secondary return loops was first assessed to evaluate the overall *Legionella* risk. Water temperatures at the water heater outlet and at the main recirculation loop were monitored over a 3-week period (2015/11). Although the mean hot water temperature was above the 60°C set point ($61.1^{\circ}\text{C} \pm 3.0^{\circ}\text{C}$), important temperature variations were observed throughout the day and continuous monitoring revealed that the 60°C was met only 85% of the time. As an example, the hot water temperature lowered to 37.4°C during a high demand event and the temperature remained below 60°C for a period of 30 minutes. In addition, the mean temperature in the main recirculation loop ($52.9 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$) did not meet the recommended 55°C (Castex & Houssin, 2005; Health and Safety Executive (HSE), 2013). Mean recirculation temperatures below 50°C were also observed for secondary horizontal pipes (Bédard et al., 2015). An earlier study revealed that mean hot water temperature after 5 minutes of flushing at the tap was below 50°C ($45.5 \pm 6.6^{\circ}\text{C}$) and more than 80% of sampled faucets (53/63) did not reach 55°C after 15 minutes of flushing (Bédard et al., 2015). In addition, pressure recorded at the principal flow and return loop prior to distribution into the secondary flow and return loops revealed the absence of a pressure differential between the hot water and the recirculation systems. Prior to the start of this study, secondary pumps were installed on the recirculation loop of wings 3, 4, 5 and 6, as an attempt to compensate for the lack of recirculation observed in those wings. However, poor water recirculation in sectors of a large building HWDS is often associated to a lack of hydraulic balance between the different secondary loops and should be addressed. The use of local pumps on selected secondary horizontal loops can drive local internal loops, creating flow inversions between hot water and recirculated water during or in between periods of water usage. In addition, the presence of a connection between the hot water and the recirculated water at each point-of-use (Figure 4.1) increased the number of locations where flow inversions could occur. This phenomenon will be discussed in greater details in section 3.3 and is likely one of the reason why temperatures of 55°C cannot be reached after prolonged flushing at some points of use despite production of hot water at or above 60°C. In light of these results and according to the risk classification approach proposed by Bedard et al., the principal flow and return loop system was rated at risk, with hot water temperature $\geq 60^{\circ}\text{C}$ less than 90% of the time and the principal recirculation loop temperature

below 55°C. The secondary and tertiary flow and return loops were at high risk, with secondary return loop temperatures below 50°C in several wings and at the tap after 5 minutes (Bédard et al., 2015).

4.3.2 Detection of *Legionella pneumophila* in the HWDS

Monitoring of *Legionella* spp., *L. pneumophila* and water quality was conducted on the system (water heater outlet and the recirculation loop) and points of use before the start of the hydraulic investigation (Table 4.1). The selected points of use included showers (9), manual faucets (12) and foot-operated faucets (8), and were located throughout the hospital, with 17 points located in Wing 3. The *Legionella* population was clearly dominated by *L. pneumophila* and given the observed similarities between both datasets, the discussion mainly focuses on *L. pneumophila* results. High positivity for *L. pneumophila* was observed throughout the hospital, with maximum bacterial loads observed in Wing 3. This wing was selected as representative of a hospital sector with poor hot water recirculation and unable to achieve recommended control temperatures. More specifically, mean bacterial loads for *L. pneumophila* positive samples in Wing 3 were more than 3X higher than in all other wings and all positive samples from Wing 3 were at or above an established action level of 1 000 CFU/L (Health and Safety Executive (HSE), 2013). The lower temperature results observed in Wing 3 also confirmed the presence of water circulation issues. Although the variability was comparable, the mean temperature was 5.3 °C lower in Wing 3, a trend also observed for minimum and maximum values. Overall, the prevalence and bacterial load of *L. pneumophila* measured in hot water samples of the studied HWDS confirmed the high level of risk for *Legionella* proliferation that was assigned based on temperature data (section 3.1).

Table 4.1: Positivity of *L.pneumophila* (% or CFU/L) compared to physicochemical results in all wings and particularly in wing 3

	All wings excluding Wing 3					Wing 3				
Number of samples	26					18				
<i>L. pneumophila</i> positivity	83.3%					100%				
<i>Legionella spp</i> positivity	87.5%					100%				
	Mean	2*SD	Median	Min	Max	Mean	2*SD	Median	Min	Max
<i>L. pneumophila</i> levels in positive samples (CFU/L)	3 639	8 525	3 050	20	15 000	12 211	26 970	5 500	1 000	40 000
<i>Legionella</i> levels in positive samples (CFU/L)	6 979	22 920	5 000	20	35 000	12489	26 757	6 400	1 000	40 000
pH	7.8	0.2	7.8	7.6	8.0	7.5	0.4	7.5	7.2	7.8
Turbidity (NTU)	0.38	0.78	0.28	0.04	2.13	0.3	0.11	0.31	0.21	0.41
Dissolved Oxygen (mg/L)	8.1	2.1	8.1	6.3	10.0	7.32	1.49	7.1	6.08	8.69
Maximum temperature at point of use	54.9	6.6	55.2	48.6	59.7	49.6	5.54	49.4	44.1	54.9

S.D: Standard Deviation

The distribution of *L. pneumophila* counts were investigated as a function of the maximum temperature reached after flushing the point of use for at least 10 minutes (2016/01 to 2016/05). Figure 4.2 clearly shows that the counts are systematically higher between 40-55°C and that they decrease substantially and significantly ($p < 0.005$) for water samples collected at points of use where maximum temperature exceeded 55°C. More specifically, the median decreased by 2.1 log when temperatures were above 55°C, and an important decrease in *L. pneumophila* positivity was observed (Figure 4). According to these results, a relationship between the temperature at the point of use and the percent positivity can be suspected. Although a decrease in positivity is already observed between 50-55°C, it should be noted that the only two points driving this reduction observed had temperatures of 54.6°C, very close to the 55°C cutover temperature. A lower positivity for *Legionella* (72% vs 100%) was also observed at temperatures above 55°C, as reported in prior studies (Arvand et al., 2011; Marchesi, Isabella et al., 2016). Arvand et al. observed a drastic reduction from 87% to 11% in distal positivity for samples where temperature was below vs above 55°C (Arvand et al., 2011). In their study, 309 samples collected after a 5L flush were analyzed, of which 52 were below 55°C. The lower positivity observed by Arvand et al. could be attributed to the fact that samples above 55°C included water temperatures up to 70°C, which would decrease further the positivity. In the present study, the highest temperature measured at the point of use was 60.8°C. Positivity results obtained in our study are closer to those reported by Marchesi et al., who also observed a reduction in *Legionella* positivity when hot water temperature was above

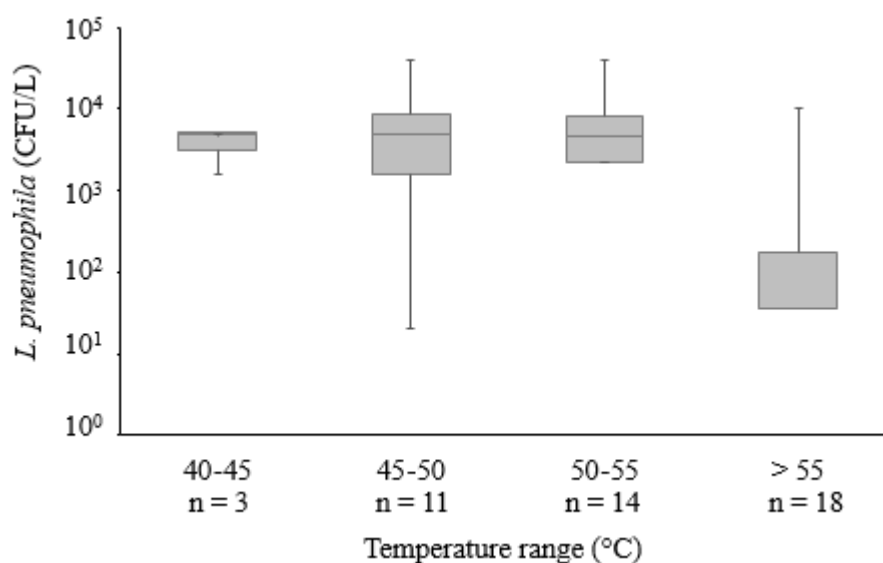


Figure 4.2: Variation of *L.pneumophila* (CFU/L) as a function of the maximum hot water temperature measured at the tap

55°C, but to a lesser degree (Marchesi, Isabella et al., 2016). A total of 66 samples were collected after 1-minute flush, with 90.5% positive for temperatures between 50°C and 55°C, 63 % for temperatures between 55°C and 60°C and no positives for temperatures above 60°C. Our observations and those previously reported show that thermal control can be an effective barrier to control *L. pneumophila*, but needs to be maintained over time in order to observe positivity decrease below 30% (Bédard, Boppe, et al., 2016).

Figure 4.3 presents *L. pneumophila* results as a function of the type of device sampled. No significant difference was noted in *L. pneumophila* concentrations when considering shower heads (9) and faucets (12 manuals and 8 pedal activated). Ten out of 12 manual faucets, all shower heads and all foot-operated taps were contaminated. The median concentrations were respectively 5200 CFU/L, 5675 CFU/L and 4250 CFU/L. Our results do not indicate an impact of the type of device on *L. pneumophila* contamination. However, the system wide contamination and the recirculation issues present at the time of sampling combined to the reduced sample size for each type of device make it difficult to conclude.

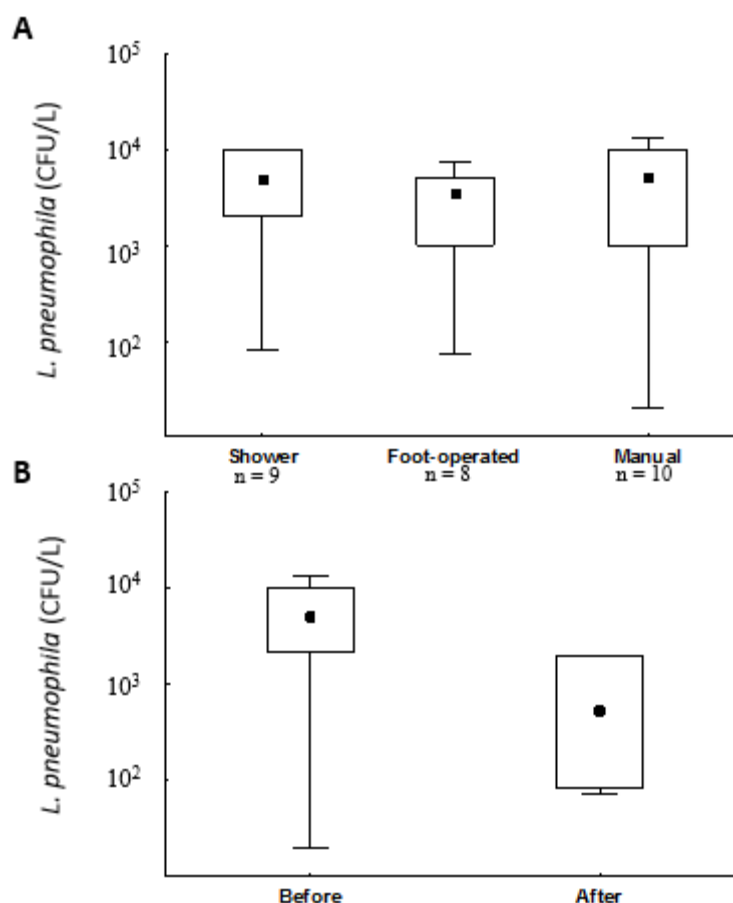


Figure 4.3: (A) Variation of *L.pneumophila* (CFU/L) depending on the type of point-of-use. Shower, n=9; foot-operated, n=8; manual, n=10. (B) Evolution of *L.pneumophila* (CFU/L) before (October 2015 –April 2016, n=27) and after (June 2016, n=6) the hydraulic corrective measures. ■ median; boxes = 25% - 75% ; whiskers = min-max;

Elevated water residence times and stagnation have also been identified as contributing factors for *Legionella* growth in plumbing systems (Liu, Z. et al., 2006). Most *Legionella* control guidance and regulations specify that dead-end and stagnation zones should be avoided (Australian/New Zealand Standard (AS/NZS), 2011; Bédard et al., 2015; Health and Safety Executive (HSE), 2013; République Française, 2010b; World Health Organization (WHO), 2011). Areas with low flow and stagnation are favorable to the development of biofilm which can detach during intermittent periods of higher velocity and turbulent flow occurring during water usage. In health-care facilities, a peak factor of 6 or more can be encountered for water usage during high demand periods such as bathing time (Bujak, 2010), increasing further the variation between low and high usage periods. Several

guidelines suggest to include sampling points furthest located from the water heater as representative of the risk for *Legionella* proliferation, based on the assumption that furthest points correspond to higher water residence time (Health and Safety Executive (HSE), 2013; République Française, 2010b). Results from this study suggested general increasing trend between the *L. pneumophila* load and the linear distance from the manifold, but considerable scatter and weak correlation were observed. As shown on Figure 4.2, temperatures at the point of use are clearly a better risk indicator. In this case, the selection of the high risk indicator sites based on their distance from the water heater outlet may not be justified since the distance was not a good indicator of *Legionella* contamination levels. The selection of sampling points located furthest away from the water heater to monitor *L. pneumophila* risk may be representative in a balanced system (République Française, 2010b; Völker et al., 2016). Results from the current study suggest that selection of sampling points in an unbalanced system should be based on temperature rather than on the distance from the water heater in order to be better representative of the *Legionella* risk.

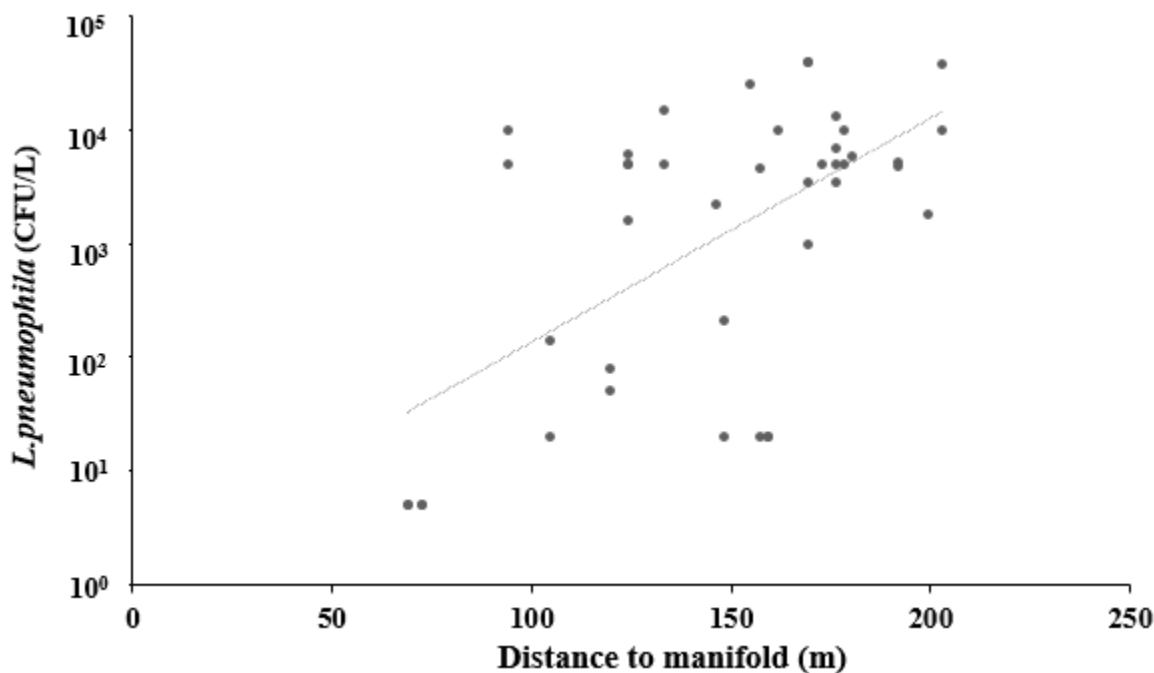


Figure 4.4: Evolution of *L. pneumophila* (CFU/L) depending on the distance covered by the hot water between the manifold and the point of use ($R^2=0.36$)

As several factors may be involved in presence of *Legionella* contamination in the hot water system, a multivariate adaptive regression spline (MARSpline) statistical analysis was conducted

to identify the most significant contributors to elevated observed concentrations. The dependent variable was *L. pneumophila* culture results and the following variables were included as independent variables: type of device, maximum water temperature range, distance from the manifold, dissolved oxygen, pH and turbidity. The resulting equation indicated that temperature and turbidity were the dominant predictive variables, followed by the type of device and the distance from the manifold, with a resulting correlation of $R^2=0.68$. Dissolved oxygen and pH were not predictive variables. These results also point toward temperature as an important factor to predict the risk of *Legionella* within HWDS, and suggest that turbidity should be investigated further. Based on these results, we hypothesize that overall hydraulic balancing issues of the HWDS and poor local water recirculation patterns were the main source of the temperature deficiencies that were observed, leading to high bacterial loads of *Legionella* contamination.

4.3.3 Effect of hot and cold water mixing at the point of use on the hot water system temperature

The presence of unfit equipment was investigated in Wing 3 where hot water temperature in showers was not meeting user expectations. As described in section 4.2.4, certain types of shower mixing valves enabled a connection between hot and cold water systems when improperly closed (**FigureS1**). It should be noted that such connections may also occur if the faucet return valves are blocked or defective, which is a commonly reported problem in large buildings. A field investigation was conducted to measure the extent and impact of a connection between the hot and cold water at the point of use. Temperatures at the bottom of risers of each targeted shower were monitored over a period of 2 weeks. Figure 4.5 shows temperatures and flow rates observed at the bottom of a riser when the shower mitigating valve improperly closed (03/26 to 03/30 and 04/01 to 04/03, Figure 4.5a, c) or closed (03/30 to 04/01). When the shower mitigating valve was left open (shower improperly closed), the median hot water temperature was 31.5 °C, with punctual increases when hot water was used. When the shower mitigating valve was closed, the median temperature was higher at 39.0 °C. Temperature decrease observed at night was not related to the closing of the shower valve, but rather to the lack of recirculation that was present in this wing before the hydraulic balancing of the system. In case of integrity breach between hot and cold water systems, cold water can flow into the hot water system if pressure differential is favorable, causing

a decrease of hot water temperature. In this case, cold water pressure measured at the bottom of the risers was slightly superior to that of hot water (111 PSI vs 109 PSI), thus increasing the risk of mixing.

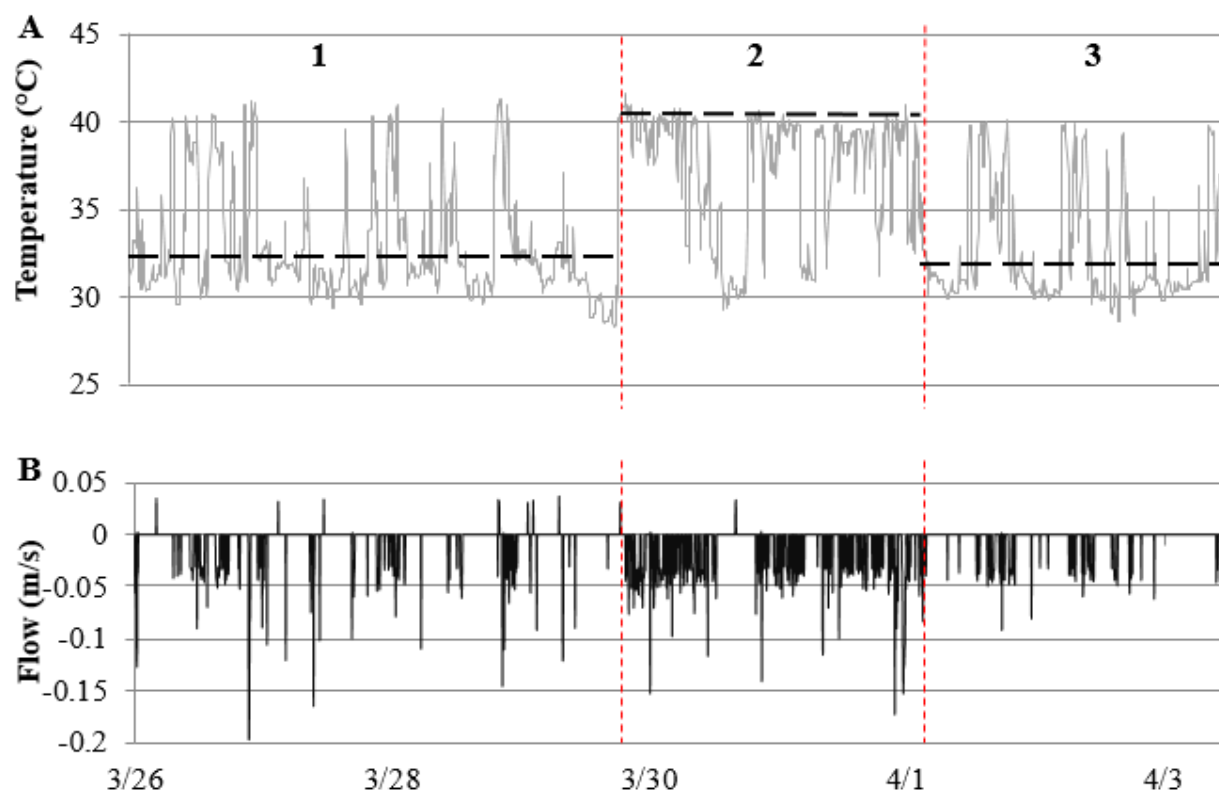


Figure 4.5: Temperature and flow of hot water at one of the vertical pipes in Wing 3 during the ‘faulty shower’ test. The mixing valve of the shower was kept open during period A and C and was kept closed during period B. Figure 6 shows that one shower has an impact on the hot water temperature of the whole riser. Black dotted line: median.

The effect of flow rate on temperatures can also be observed on Figure 4.5: in periods of stagnation (at zero flow), hot water temperature decreases, whereas in periods of use, hot water temperature increases. Moreover, negative flow rate values indicate reversed water circulation in the recirculation loop and suggest that recirculation water is being fed to the faucet. Results from this local detailed investigation show the large impact a single device can have on the distribution and maintenance of hot water temperatures in a large section of the HWDS. A single defective device was sufficient to increase the volume of water at risk for *Legionella* proliferation, as temperature

could not be maintained in the vertical risers. Although the estimated water volume associated to a faucet or a shower is relatively small (10 to 500 mL), the impact is observed on a much larger volume contained within the connecting pipes and the secondary pipes. In the present case, the impact on temperatures was observed at the lower level of the risers, located 6 floors below the showers and corresponding to a volume of 6.5 L. These results highlight the importance of maintaining systems integrity between hot and cold water, even at local points of use such as showers or mitigated taps. Not only is the hot water distribution systems more at risk for *Legionella* due to lower temperatures, but the intrusion of hot water into the cold water can also increase the risk of bacterial contamination and of *Legionella* proliferation in the cold water distribution system (Arvand et al., 2011). Thermostatic faucets have integrated check valves that are high-maintenance and are vulnerable due to poor quality material. The installation of additional single check valves on the hot and cold water feed pipes are recommended to prevent mixing of cold and hot water (Castex & Houssin, 2005).

4.3.4 Impact of the addition of local secondary recirculation pumps

As a first attempt to force recirculation, the hospital staff installed local secondary recirculation pumps to force circulation in the sectors with documented insufficient water temperatures. These pumps were located on the recirculation loops of Wings 3, 4, 5 et 6. Temperature and flow rate monitoring results showed that the secondary local recirculation pumps induced a local water flow inversion within the horizontal and vertical secondary recirculation loops (Figure 4.6a). Temperatures were higher for the recirculating water ($45.4 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$) compared to the hot water ($41.7 \pm 5.3^{\circ}\text{C}$). A high level of temperature variation between usages was also observed (Figure 6 a, b). As a result and in order to work toward balancing the hot water system as a whole, all secondary recirculation pumps were removed.

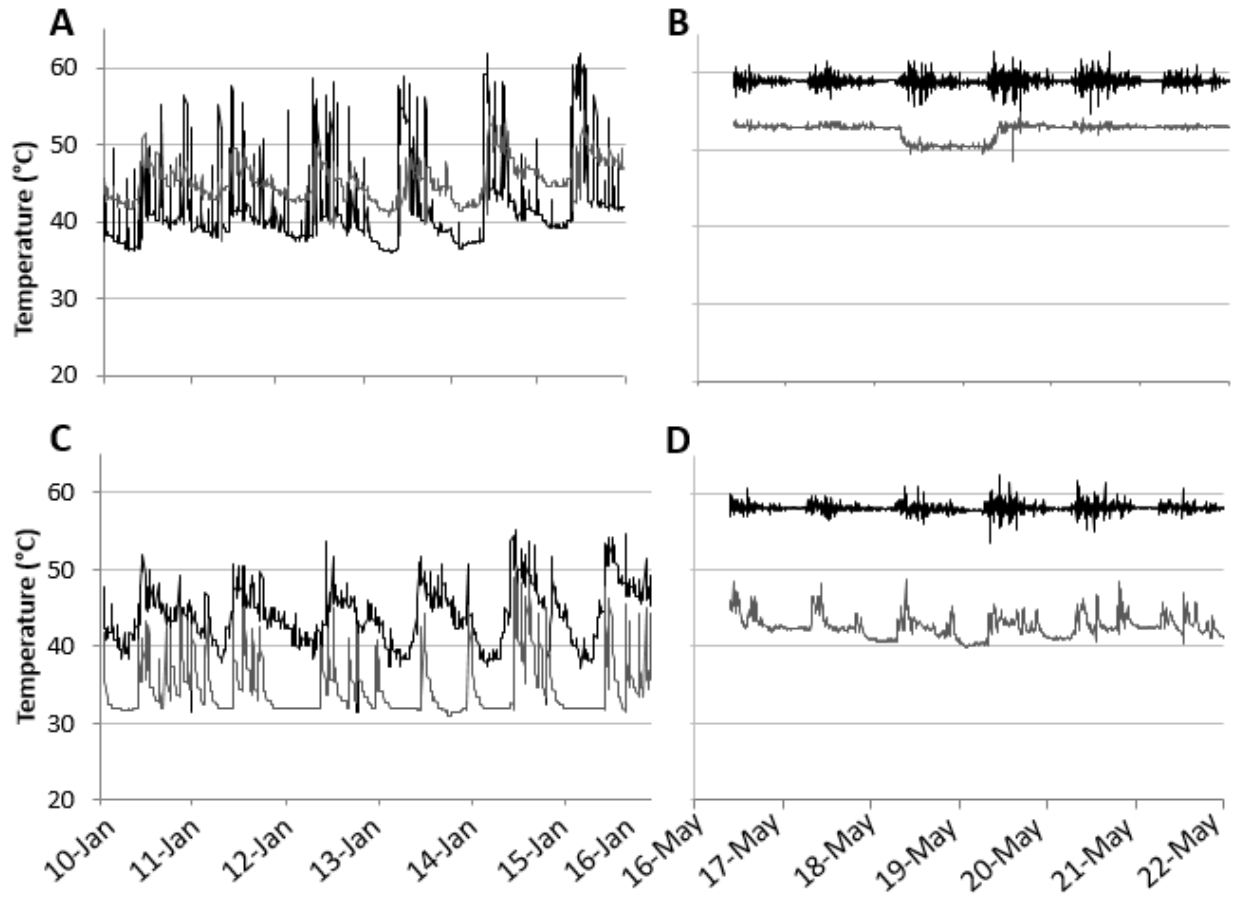


Figure 4.6: Temperatures at the entrance (A & B) and end (C & D) of wing 3, before (A & C) and after (B & D) the modifications of the hydraulic system. Temperatures of hot water (black) and recirculated water (grey) were taken on vertical risers in January and May 2016.

The resulting effects on water temperatures and flow rates in Wing 3 are presented in Figure 4.7. Although the problems of poor temperatures remained in the furthest risers, circulation was improved at the inlet of the wing.

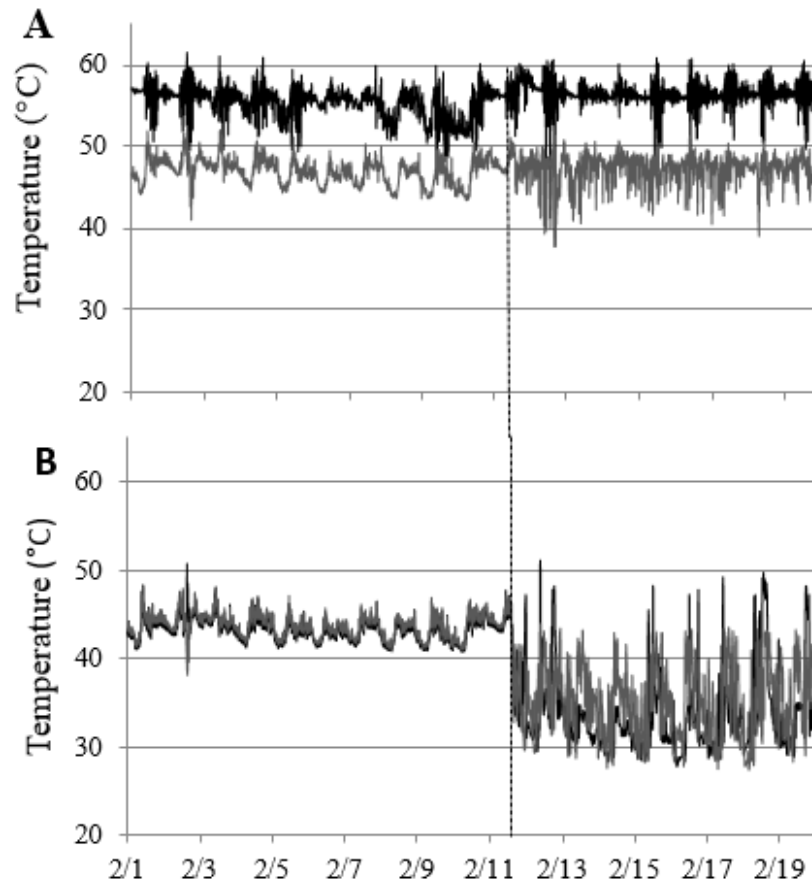


Figure 4.7: Impact of secondary recirculation pump shutdown on temperatures in Wing 3 in February 2016. Hot water (black) and recirculated water (grey) temperatures were taken on main horizontal pipes.

In order to determine which wing was hydraulically disadvantaged and to assess the level of balancing required between the different wings, temperature probes were placed on the surface of the horizontal secondary flow and return loop of each wing. These results revealed a mean hot water supply temperature of $58.1 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$ in the hospital kitchen whereas hot water was supplied to Wing 3 with a mean temperature of $49.6 \pm 1.9^{\circ}\text{C}$, a loss of 11.5 degrees compared to the water heater outlet temperature. These results indicate uneven water distribution between the wings and suggest that certain loops offering minimal pressure losses (such as the kitchen) can act as a bypass for a large portion of the recirculated water volume. The lack of pressure differential between hot water and recirculated water observed points toward the same conclusion. Detailed investigation of temperatures and flow rates of the secondary horizontal flow and return loops led to the identification of 15 cm- diameter unused recirculation loop. The mean temperatures measured on

the hot and recirculated water of that loop (52.5°C and 38°C) suggest the presence of water circulation, offering another bypass for the recirculating water. The unused recirculation loop was therefore eliminated and the recirculation flow in the kitchen was minimized to force the recirculation in the other wings. Given that pressure losses are more important in recirculation loops of the other wings, the restriction in the kitchen helped to induce a differential of 2 psi between the hot water and the recirculated water. Despite the observed improvement in temperatures, this measure was not sufficient to reach recommended minimum recirculation velocities (Castex & Houssin, 2005). Additional corrective measures were therefore implemented in 2016/05. Efficiency improvements of the principal recirculating pump and restriction of the recirculation flow for hydraulically advantaged wings (7, 8 and 9) contributed to increase water recirculation velocity up to 0.3 m/s.

Following these improvements, hot water and recirculation temperatures were monitored for each wing (05/10 to 05/16) and compared to results obtained from 03/18 to 03/22. A gain of 7.6°C in hot water temperatures was observed in Wing 3 after the first phase of corrective measures, which included the closing of local secondary recirculation pumps and the restriction of the kitchen recirculation ($49.6 \pm 1.9^{\circ}\text{C}$ vs $57.2 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$). The second phase of corrective measures resulted in a higher gain on the recirculation temperatures, as presented in Table 4.2. A mean temperature increase of 5.9°C was observed before and after the 2nd phase, and the highest gain was observed in wings that had the lowest recirculation temperatures initially, suggesting generalized marked improvement on hot water temperature distribution within the system. Hydraulic balancing is key to ensure proper functioning of the water distribution system and to obtain required temperatures to control *L. pneumophila* at all points-of-use.

Table 4.2: Mean temperature and standard deviation of the recirculated water at the entrance of Wings 1 to 8 in March and May 2016. ΔT represents the difference between May and March for each Wing. The changes made in the hot water and recirculation systems have led to an average of $+5.9^{\circ}\text{C}$ in the whole recirculation system.

WING	1	2	3	4	5	6	7	8
18-22 March	45.5 \pm 1.6	49.7 \pm 0.8	48.3 \pm 1.2	44.6 \pm 0.6	38.0 \pm 1.4	38.0 \pm 2.2	52.0 \pm 0.5	50.4 \pm 0.4
10-16 May	51.9 \pm 0.7	53.1 \pm 1.2	52.9 \pm 0.9	51.5 \pm 1.1	51.8 \pm 0.7	52.5 \pm 1.0	50.7 \pm 0.9	49.6 \pm 0.5
$\Delta T (^{\circ}\text{C})$	+6.4	+3.4	+3.2	+6.9	+13.8	+14.5	-1.3	-0.8

4.3.5 Impact of hydraulic system improvements on temperature up to the point of use

Following the observed gain in water temperatures in the horizontal secondary flow and return loops feeding each wings, temperatures at the bottom of the risers were monitored in Wing 3 (05/16 to 05/22) and compared to temperatures obtained prior to the implementation of corrective measures (Figure 4.6). Temperatures results are presented for the first riser into the wing (Figure 4.6a and b) and the riser next to the end of the wing (Figure 4.6 c and d). The temperature drop observed on the recirculation water between 05/11 and 05/12 was attributed to a short event with the recirculation pump (Figure 4.6b). As a result of the system hydraulic balancing, the mean hot water temperature in Wing 3 increased significantly ($58.9 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$) and better temperature distribution was observed throughout the wing. Increases of 14°C in hot water and of 8.1°C in recirculated water were observed in the riser next to the end of the wing (Figure 4.6c, d). Moreover, there were no more occurrences of flow inversions within the secondary vertical flow and return

loop, with hot water temperature consistently higher than recirculated water temperatures (Figure 4.6a, c).

Hot water temperature profiles were also conducted at points of use in Wing 3 to validate if the observed temperature increases at the bottom of the risers was also reflected at the points of use. Figure 4.8 shows temperature profiles obtained before the beginning of corrective measures (2012-2015, Figure 4.8a), after stopping all local secondary recirculating pumps (04/22 to 04/27, Figure 4.8b) and after the implementation of all corrective measures (05/11, Figure 4.8c).

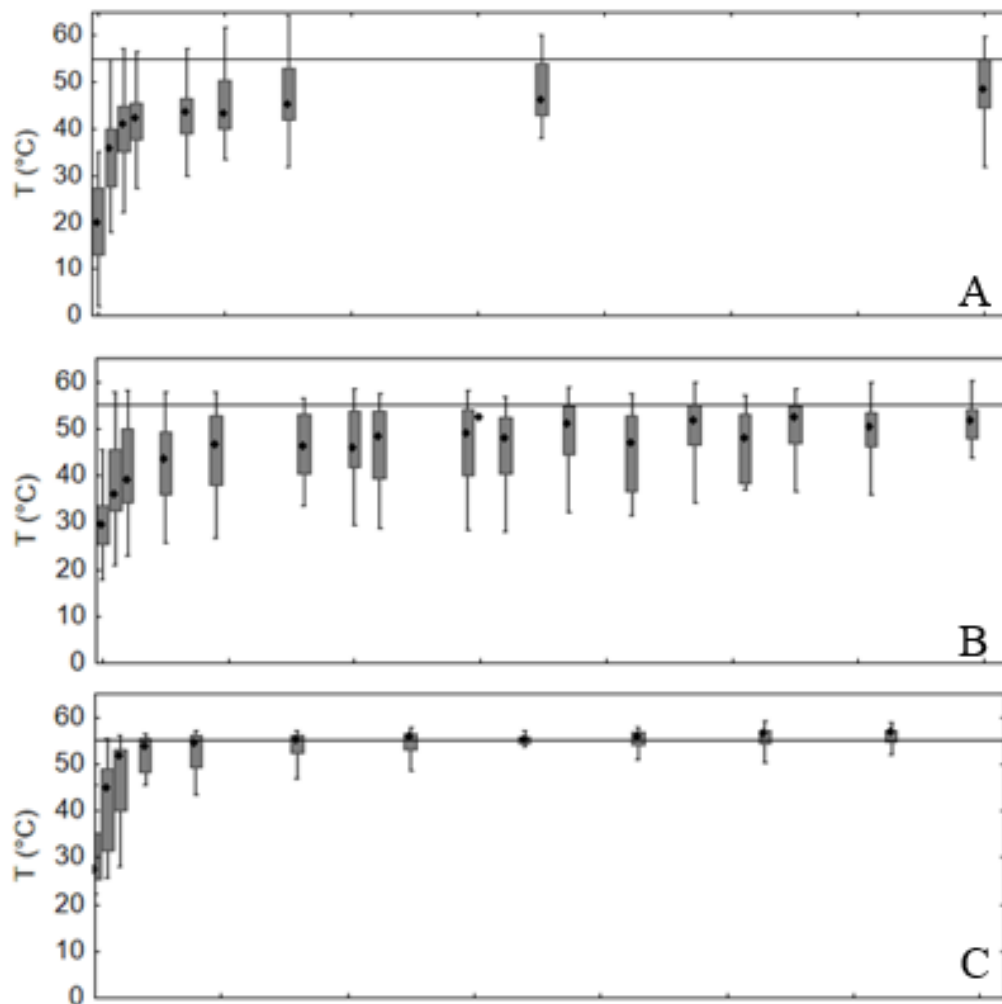


Figure 4.8: Hot water temperature profiles at point of use as a function of volume throughout system changes. a) 2012-2013, n= 45; b) April 2016, n= 39; c) May 2016, n=16. ■ median; boxes = 25% - 75%; whiskers = min-max;

An important gain in hot water temperature at the point of use was achieved following hydraulic corrective measures and results obtained after 4 weeks are encouraging. However, more work is required to further reduce the percentage of positive points of use and to ensure that reduction observed by culture translates into a reduction of viable cells as well. Monitoring of culturable and non-culturable *L. pneumophila* over the next year together with continuous system improvement to reach 55°C at all points of use after one minute will be the next steps to have a low risk system.

In light of the results obtained in this study, a step approach is proposed to rehabilitate an existing deficient large building hot water system and obtain recommended temperatures to improve *L. pneumophila* control:

- Ensure hot water temperature at the water heater outlet $\geq 60^{\circ}\text{C}$ through continuous monitoring.
- Eliminate local secondary pumps if present in the system.
- Evaluate the efficiency of the main recirculation pump to deliver water velocities ≥ 0.2 m/s.
- Measure pressure differential between the principal horizontal hot water feed and the principal recirculation return pipes; if no pressure differential is present, investigate for the presence of loops offering less resistance and offering a bypass for the recirculating water. This evaluation can be performed through temperature measurements of the hot water feeding the different parts of the building. Temperature results can be used to identify required hydraulic balancing between the different sectors of the hot water system.
- Perform balancing through flow restriction devices on the recirculation loops of the sectors with higher temperatures (hydraulically privileged) in order to force recirculation into wings with lower temperatures.
- Investigate for the presence of dead legs (stagnation areas) or unused loops in the principal and secondary flow and return loops.
- Investigate the presence of flow inversion in each sector of the building through temperature monitoring at each riser for a vertical architecture or by story for a horizontal architecture to ensure performance to design.

- Identify misfunctional equipment or local hydraulic deficiencies using temperature profiles at points of use. Water temperature at the faucet should reach 55°C within 1 to 2 minutes of flow. If this criterion is not met, the required time to reach maximum temperature and the maximum temperature obtained can be used as indicators to locate the source of the problem.

Hot water distribution systems in large buildings are subject to numerous variations over the years, especially for healthcare facilities where numerous points of use are present and renovations/rehabilitation of building areas are frequent. The system that was designed and hydraulically balanced originally may become unbalanced overtime as wings are added (increased water usage and head loss), rooms are converted to offices (change in water usage pattern and removal of points of use, leaving dead legs), corrosion and biofilm build up and increase pressure loss overtime. Consequently, reduced water velocity and uneven distribution between the different sectors of the building will increase residence time and lead to suboptimal temperatures within areas of the system (below 55C) or at the point of use. As a result, the system becomes at risk of *Legionella* proliferation, leading to high levels of contamination and risk of infection for exposed individuals. This study documents an investigative step approach based on temperature monitoring that allowed the balancing of a 50-year-old hot water distribution system that had become unable to provide required hot water temperature for *Legionella* control and was faced with a widespread contamination. As a result of the investigation, minimal equipment changes were required (addition of flow restrictive devices on secondary horizontal return loops) and results could be observed within a month from the changes.

Finally, if temperature cannot be maintained throughout the HWDS up to the point of use because of improper circulation, thermal control cannot be efficient. Resolving hydraulic issues should therefore be the highest priority for any HWDS. It is also evident that disinfection in that situation would also fail, as improper distribution will hinder the effective distribution of disinfectant residuals across the HWDS.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the partners of the NSERC Industrial Chair on Drinking Water and healthcare facility staff. The authors would like to thank Chair staff especially Yves Fontaine, Jacinthe Mailly, Laurence Rousseau and Cedric Chan, hospital staff, especially Louis-Michel Desjardins, and CEAEQ laboratory staff for microbiological analyses.

CHAPITRE 5 RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES : ÉTUDE AU SEIN D'UN AUTRE ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ

Ce chapitre est consacré aux résultats obtenus lors de l'étude ayant lieu dans un autre établissement de santé que celui présenté dans l'article. Cette étude a eu lieu entre l'automne 2014 et l'été 2015. Les résultats ont été présentés au personnel du bâtiment par une présentation ainsi qu'un rapport. Cette étude a notamment débouché sur la publication d'un article qui est disponible en annexe, dont l'auteure est Émilie Bédard et dont la candidate est deuxième auteure.

5.1 Mise en contexte

Au cours de l'été 2014, un hôpital universitaire de 400 lits a identifié deux cas de légionellose dans l'aile A et ce, malgré la présence d'un traitement aux ions cuivre et argent pour le système d'eau chaude. La souche bactérienne associée à ces deux cas a été identifiée comme étant *Legionella pneumophila*. Afin de quantifier la présence de légionelles aux points d'utilisation, une campagne d'échantillonnage des systèmes d'eau chaude des différentes ailes a été lancée. Les ailes A et B se sont révélées positives pour la culture de légionelle. Parmi les différentes mesures correctives citées dans la section 2.3, une désinfection thermique des deux ailes a été choisie en premier traitement. La température du chauffe-eau a été augmentée de sorte que chaque point d'utilisation soit rincé pendant un temps minimum de 7 minutes à 70°C. À la suite de ce choc thermique, un régime thermique a été mis en place dans les 2 ailes : la consigne du chauffe-eau a été placée à 60°C une température de 55°C était visée. De façon complémentaire, des rinçages hebdomadaires de tous les robinets ont été mis en place sur une base rotative dans les 2 ailes. Le régime thermique a été appliqué de façon continue car c'est la condition de son efficacité (Bédard et al., 2015). Au cours des mois d'octobre et de novembre 2014, une nouvelle campagne d'échantillonnages a été lancée auprès de 23 points d'utilisation critiques afin d'évaluer les nouveaux niveaux de risque suite à la désinfection thermique. La détection de *Lp* par culture ainsi que par q-PCR a d'abord été réalisée en novembre 2014 puis en février et juillet 2015 afin d'établir un portrait de la contamination du réseau, autant du point de vue des bactéries cultivables que des bactéries viables.

5.2 Evolution des concentrations en *Legionella pneumophila* en fonction de l'échantillonnage

Afin de suivre l'évolution des concentrations en *Legionella pneumophila*, trois campagnes d'échantillonnages des ailes A et B ont eu lieu en décembre 2014, février 2015 et juillet 2015. Les échantillonnages ont aussi été réalisés au niveau de la pompe de recirculation, de l'eau froide alimentant l'échangeur à plaques et à la station de pompage afin de 1) déterminer si une contamination était présente dès l'entrée du système, 2) corréler les données des systèmes aux données des points d'utilisation, 3) quantifier le caractère stable ou non du système par rapport aux robinets. Ainsi, chaque échantillonnage, un portrait global du système de distribution d'eau, incluant les eaux chaude et froide a pu être tiré.

Les échantillonnages de novembre 2014 et février 2015 ont été effectués sur le premier jet d'eau au point de prélèvement. Pour l'échantillonnage de juillet 2015, les échantillons d'eau ont été prélevés après rinçage d'une minute afin d'éviter de mesurer la contamination dans le volume stagnant au port de prélèvement mais plutôt la contamination dans le système de distribution. Le point de prélèvement de la salle mécanique de l'aile A a été échantillonné au premier jet et après rinçage pour avoir un point de comparaison avec les 2 échantillonnages précédents.

Au niveau des robinets, un volume de 2,25 L d'eau chaude était prélevé aux robinets au 1^{er} jet. En novembre 2014, 9 robinets ont été échantillonnés dans l'aile A et 5 robinets dans l'aile B. Des points d'échantillonnage ont peu à peu été rajoutés au fur et à mesure. En février 2015, deux robinets ont été ajoutés dans l'aile 5. Une toilette au sous-sol de l'aile B connaissant une contamination élevée, 2 points aux alentours ont été rajoutés en juillet 2015 afin de vérifier si la contamination était restreinte à la toilette ou bien élargie aux locaux environnants. Tous les prélèvements étaient effectués dans des bouteilles stériles contenant du thiosulfate de sodium (1%). Le dénombrement de *Legionella* et de *Lp* a d'abord été effectué par culture selon la méthode AFNOR NFT 90-431 (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2014). Cette méthode dénombre les bactéries cultivables, c'est-à-dire les cellules vivantes et ayant la capacité de croître sur un milieu de culture adapté dans les délais prescrits. Les cellules vivantes mais non cultivables ne sont pas détectées par cette méthode. La méthode de qPCR NF-T90 471 a aussi été utilisée en parallèle (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2010). Cette méthode mesure la quantité d'ADN de *Lp* et *Legionella* spp. présent dans l'échantillon d'eau. Les analyses qPCR ont

été réalisées à l'aide d'un GeneDisc® Cycloer, avec la plaque *Legionella* DUO GeneDisc®. Cette plaque permet l'analyse en duplicata de cinq extraits d'ADN à partir d'échantillons d'eau et d'un contrôle négatif. Un contrôle interne d'inhibition pour *Lp* et *Legionella* spp. est aussi inclus. Les amorces et sondes utilisées sont spécifiées par la norme AFNOR NF-T90-471.

La proportion de robinets positifs pour *Lp* en culture et en qPCR dans les ailes A et B sont résumés dans le Tableau 5.1.

Tableau 5.1: Proportion des robinets positifs, de la valeur moyenne et de l'écart-type pour *Lp* en qPCR et culture par aile et par date d'échantillonnage

Aile		qPCR (UG/L)			Culture (UFC/L)			
		Nov. 14	Fév. 15	Jui. 15	Aou. 14*	Nov. 14	Fév. 15	Jui. 15
A	Positif/Total	9/9	10/11**	10/11	22/26	3/9	5/11	3/11
	Moyenne	31 767	6 445	2 837	21 200	317	27	115
	Écart type	42 605	5 542	1 930	19 000	687	56	342
B	Positif/Total	4/5***	4/5	5/7	5/9	2/5	2/5	5/7
	Moyenne	130 800	27 240	40 041	1700	24 000	8 200	13 336
	Écart type	140 571	28 571	51 264	1857	43 172	12 038	22 736

* Avant désinfection thermique

** La limite de détection pour l'échantillon non-déecté était de 8600 UG/L

*** Le seul robinet sous la limite de détection a été prélevé en présence d'un filtre Pall

L'aile A a connu une baisse importante du nombre de points d'utilisation positifs en culture après la désinfection thermique, passant ainsi de 85 à 33% de points positifs. Comme abordé dans la section 2.3.2, la désinfection thermique a permis de faire diminuer rapidement le nombre de cellules cultivables. Cependant, les résultats élevés de novembre en qPCR en novembre suggèrent que la désinfection thermique ne parvient toutefois pas à éliminer les *Lp* non-cultivables. Pourtant, la réduction progressive des concentrations observées en qPCR dénote l'efficacité à long terme du maintien d'un régime thermique. Malgré le maintien de ce régime et des rinçages hebdomadaires, le pourcentage de robinets positifs reste important. Ces mesures permettent donc de contrôler le niveau de légionelles dans le réseau mais ne permet de l'enrayer.

Les résultats des concentrations en *Lp* détectées aux points d'utilisation de l'aile A sont présentés sous forme de boîtes à moustache pour la qPCR et la culture.

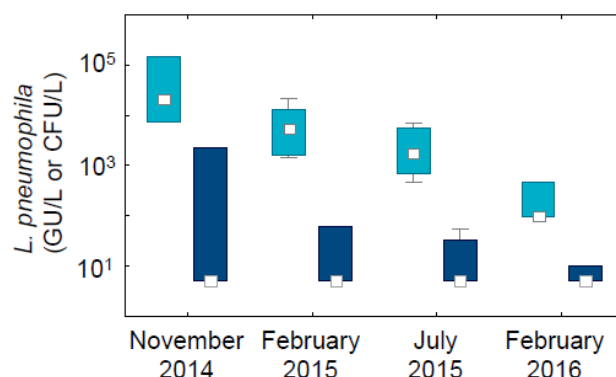


Figure 5.1 : Distribution des concentrations de *Lp* par méthode de détection qPCR (bleu clair) et culture (bleu foncé) dans l'aile A ; □ = médiane ; boîtes = 10%-90% ; moustaches = min-max; n= 10. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016)

Les résultats détaillés pour chaque point sont présentés en annexe. On observe une baisse graduelle des concentrations mesurées en qPCR dans le temps. La même tendance s'observe en culture, à l'exception du robinet d'un local au 7^e étage qui dépasse le seuil d'action. Ce point a été ajouté en juillet suite à l'investigation de l'hydraulique du 7^e étage et les concentrations avant l'implantation du régime thermique ne sont pas connues. Deux points sont au-dessus du seuil d'alerte en qPCR (5^e et 7^e étage). Le maintien du régime thermique et des rinçages hebdomadaires sur une période prolongée permettent de mieux contrôler *Lp* dans le réseau d'eau chaude, ce qui se traduit par la baisse des valeurs obtenues en qPCR.

Dans l'aile B, la baisse des concentrations en qPCR et culture est moins marquée que dans l'aile A (Figure 5.2). Ces résultats sont principalement attribuables aux points d'utilisation alimentés par la boucle du sous-sol (3 locaux) et au 4^e étage (2 locaux). Les résultats de l'aile B suggèrent une hydraulique déficiente ne permettant pas de maintenir des vitesses de circulation et des températures adéquates dans les secteurs échantillonnés. Un bras mort de 30 mètres a été enlevé et des clapets brisés ont été remplacés sur la colonne du sous-sol alimentant le robinet W.

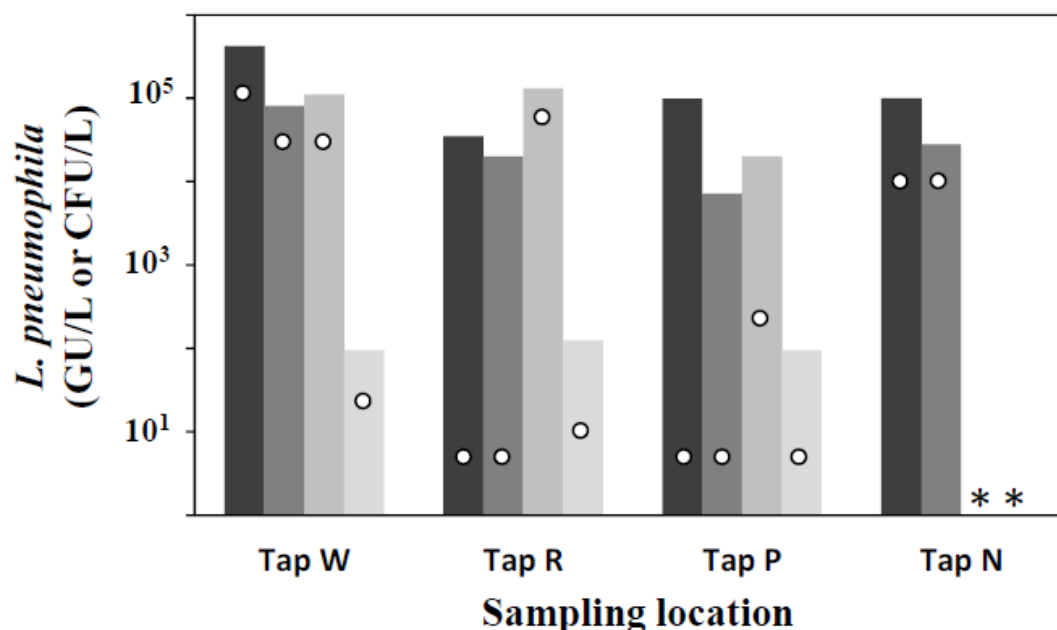


Figure 5.2 : Concentrations en *Legionella pneumophila* dans l'aile B en qPCR (barres) et culture (cercles) mesurées en novembre 2014 (noir), février 2015 (gris foncé), juillet 2015 (gris) et février 2016 (gris clair). Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016).

Les résultats sous la limite de détection étaient fixés à la moitié de la limite de détection, soit 10 UFC/L pour la culture et 190 UG/L pour la qPCR. Le robinet N n'a pas été échantillonné en juillet 2015 et février 2016 (*) car un filtre avait été installé sur le robinet.

Ces résultats montrent une interdépendance entre l'efficacité d'une désinfection thermique et de bonnes conditions hydrauliques.

5.3 Diagnostic du réseau d'eau chaude

Les températures de l'eau chaude alimentant le réseau et de l'eau recirculée étaient enregistrées par l'hôpital aux 5 minutes pour les ailes A et B au moyen de thermomètres à puits. Le point de mesure de température de l'eau chaude se situe après le chauffe-eau (après la valve mitigeur dans le cas de l'aile A) et celui sur le retour se situe avant la pompe de recirculation. La température d'alimentation et de recirculation des boucles alimentant chaque étage a été évaluée au moyen de sondes auto-adhésives Oméga SA1XL et de datalogger Omega RDXL4SD. Les températures étaient enregistrées aux 5 minutes pendant la période de suivi. Dans l'aile A, le suivi s'est fait du 2 au 20 février 2015 au moyen de sondes installées sur les conduites horizontales et verticales et sur

l'eau chaude et la recirculation de chaque étage. Le suivi de l'aile B s'est fait du 20 février au 10 avril 2015. Cette aile dessert un plus grand nombre de points et est alimentée par 4 colonnes.

5.3.1 Boucle principale de recirculation

5.3.1.1 Aile A

Les températures en sortie de chauffe-eau et au retour de la boucle de recirculation de l'aile A ont été recueillies entre le 6 et le 26 février 2015. En sortie de chauffe-eau, la température moyenne est de $60,3^{\circ}\text{C} \pm 0,28$ alors qu'elle est de $54,7^{\circ}\text{C} \pm 0,29$ dans la boucle de recirculation au niveau de l'entrée du chauffe-eau. On observe des températures stables qui rencontrent la norme. Les faibles variations de température observées à la sortie du chauffe-eau sont liées à l'utilisation d'une valve Brain qui mitige la température de l'eau sortant du chauffe-eau à 60°C .

5.3.1.2 Aile B

Les températures en sortie de chauffe-eau et au retour de la boucle de recirculation de l'aile 6 ont été recueillies entre le 19 février et le 30 mars 2015. La température moyenne en sortie de chauffe-eau est de $58,7^{\circ}\text{C} \pm 1,8$. Bien que la température de recirculation soit maintenue à plus de 55°C pendant les premières semaines de suivi, une baisse sous les recommandations a été observée pendant une période de près de 3 semaines, à la suite d'une interruption planifiée de l'alimentation en vapeur. La température a été corrigée le 28 mars. L'utilisation d'un suivi de température en continu est recommandée afin de détecter rapidement une baisse de la température moyenne de l'eau chaude en sortie de chauffe-eau et au retour de la recirculation.

5.3.2 Diagnostic des boucles de circulation secondaires des ailes A et B

5.3.2.1 Aile A

La boucle secondaire de l'aile A est constituée d'une conduite verticale d'eau chaude et de recirculation, qui alimentent des conduites horizontales d'eau chaude et de retour à chaque étage. 40 sondes de températures, comparables à celles présentées dans l'article, ont été posées à chacun des 10 étages de l'aile A.

Le suivi des températures en continu en de multiples points de la boucle secondaire de l'aile A a permis de dresser une carte des températures au cours d'une journée (Figure 5.3). La journée du 7

février a été choisie arbitrairement comme journée type (aucune panne de chauffe-eau ou d'évènement spécial). Les tendances sont représentatives de l'aile A en entier, à trois moments différents de la journée identifiés comme étant des périodes de pointe d'utilisation d'eau chaude. Cette carte permet d'identifier les zones où les températures sont insuffisantes. La température d'alimentation dans la colonne principale se maintient au-dessus de 58°C pendant ces trois périodes. On remarque toutefois que le retour d'eau chaude de certains étages est nettement sous la température recommandée de 55°C. Les étages pour lesquels des pertes de chaleur de plus de 5°C sont observées sont discutés et un niveau de risque leur est attribué en fonction de la grille d'évaluation de risque proposée par (Bédard et al., 2015).

Étage 7 – risque élevé (pertes de chaleur = 13 à 20°C)

Étages 5, 8 et 10 – à risque (pertes de chaleur = 7 à 10°C)

Étages 6 et 9 – risque modéré (pertes de température = 5 à 7°C)

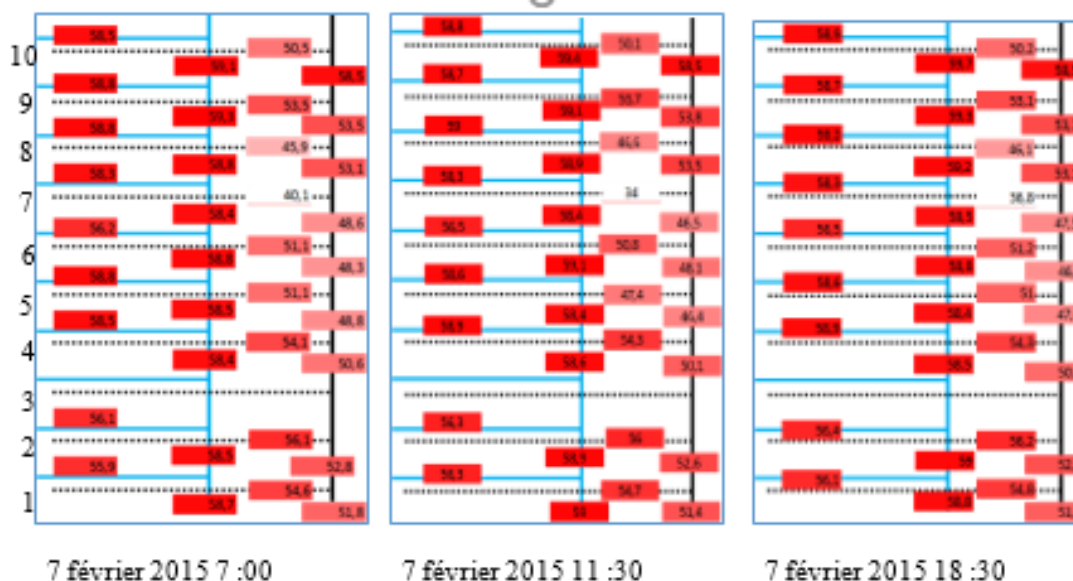


Figure 5.3 : Carte des températures évaluées par les sondes de surface dans l'aile A ; les lignes bleues représentent les conduites d'eau chaude et les lignes noires, les conduites de recirculation

Pour chaque étage, un graphique de la température à l'entrée et au retour de l'étage pour les conduites horizontales et verticales est présenté en annexe et permet d'observer les pertes de chaleur identifiée par la cartographie sur la période de suivi de 2 semaines.

Les pertes de chaleurs observées à l'étage 7 se maintiennent en moyenne à $10,1 \pm 1,4^\circ\text{C}$ pour l'eau dans les conduites verticales et à $18,5 \pm 4,1^\circ\text{C}$ pour les conduites horizontales. Le retour horizontal se situe dans une plage de température favorisant la croissance de Lp . Une investigation détaillée des causes de la perte de chaleur observée à l'étage 7 a fait l'objet d'un rapport distinct.

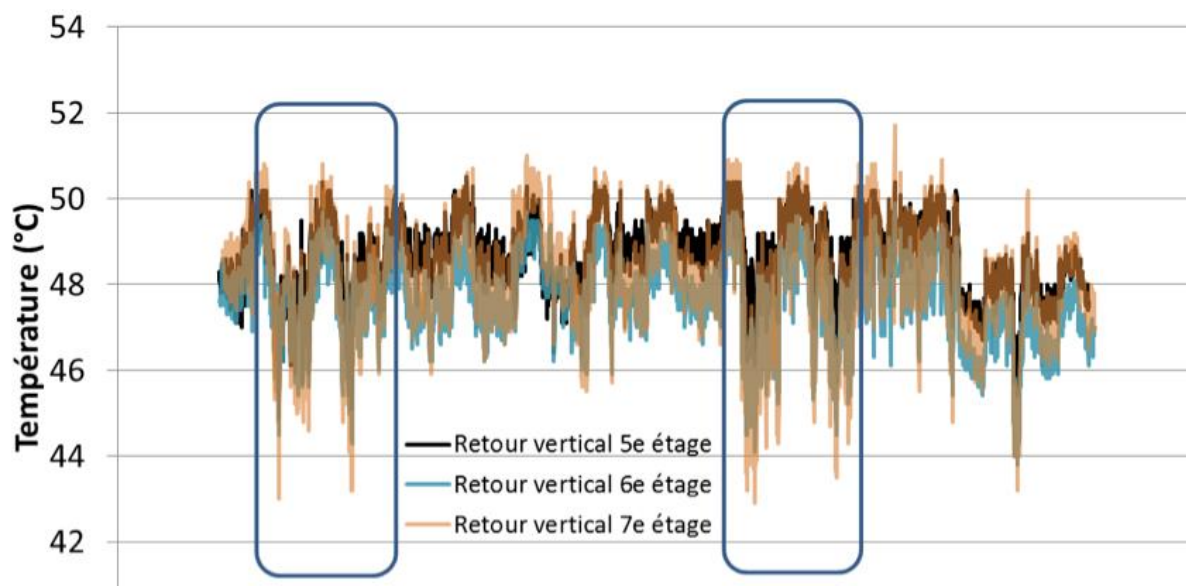


Figure 5.4 : Températures des retours verticaux des étages 5,6 et 7 (Aile A)

D'importantes variations de températures dans l'eau des conduites de recirculation verticales des étages 5, 6 et 7 sont aussi observées en fonction de la date. On remarque que les températures de recirculation subissent des baisses plus importantes les fins de semaine (encadrés bleus, Figure 5.4). Les plus faibles températures enregistrées suggèrent une utilisation réduite de l'eau chaude les fins de semaines, se traduisant par de longues périodes de stagnation et d'importantes pertes de chaleur. Cet exemple illustre que le suivi de la température de retour principal uniquement peut masquer des secteurs à risque dans les boucles secondaires.

Les autres étages identifiés comme étant à risque lors de la cartographie des températures (5, 8 et 10) présentent des résultats similaires à l'étage 7 avec des températures de retour inférieures au 55°C recommandé mais avec de moins grandes variations de températures.

5.3.2.2 Aile B

La boucle secondaire de l'aile B est constituée de 4 conduites verticales (colonnes) d'eau chaude et de recirculation : les colonnes 4P et 11J qui desservent 6 étages et les colonnes 11R et 12N qui

desservent 3 étages. Des conduites horizontales d'eau chaude et de retour à chaque étage sont alimentées par les conduites verticales. L'aile B a été « cartographiée » en 2 temps, du 20 février au 10 avril 2015, en raison du nombre d'appareils disponibles. La boucle de circulation principale se situe au sous-sol et alimente les différentes colonnes. La colonne 12N étant plus proche du chauffe-eau, viennent ensuite les colonnes 11J et 11R à distance égale et enfin, la colonne 4P, la plus éloignée du chauffe-eau. Le premier étage est alimenté par une boucle secondaire indépendante qui dessert aussi le sous-sol et qui est indépendante des 4 colonnes. La boucle du sous-sol comporte plusieurs petites boucles qui desservent des locaux différents au premier étage. L'eau chaude atteint 60°C à toutes les colonnes et à tous les étages. Toutes les recirculations n'ont pas pu être enregistrées car les conduites sont parfois inaccessibles. En général, il existe une différence de 5 degrés entre l'eau chaude en sortie du chauffe-eau et l'eau recirculée. Les étages et colonnes associés listés ci-dessous constituent les profils de température qui semblent les plus problématiques en termes de pertes de chaleur : sous-sol, 2^e étage colonne 12N; 3^e et 6^e étages colonne 4P; 4^e étage colonne 11J.

Dans le cadre de ce projet, la boucle située au niveau de la colonne 4P, soit la plus éloignée du chauffe-eau, a été suivie. La Figure 14 illustre les faibles températures d'alimentation d'eau chaude de cette boucle (moyenne de 56°C) et de faibles températures de recirculation (moyenne de <45°C). Cette perte importante de chaleur entre l'entrée et le retour d'eau chaude de cette boucle met les points d'utilisation qui y sont associés à risque. En effet, une importante contamination a été détectée à un point d'utilisation et persiste au fil des échantillonnages. L'équipe technique de l'hôpital a pu confirmer l'hydraulique peu efficace de cette partie du réseau en raison de nombreux bras morts (équivalent à 30m de conduite) et de valve anti-retour défectueuses qui empêchent le bon maintien de la température. Au 2^e étage sur la colonne 12N, la recirculation atteint à certains instants une température qui est supérieure à celle de l'eau chaude. Ces inversions de températures peuvent être liées à un changement momentané du sens d'écoulement dans les conduites lors d'une demande importante d'eau chaude ou à l'intrusion d'eau froide en période d'utilisation. Ces événements se produisent dans notre cas surtout les jours de semaine, entre 9h et 17h, soit pendant les périodes de pointe.

La cartographie des températures de l'aile B a permis d'identifier les étages les plus à risques en termes de pertes thermiques de l'eau et des températures de recirculation. Le sous-sol ainsi que le

3^e étage de la colonne 4P desservant entre autres l'urgence sont des secteurs plus à risque. Une investigation détaillée de l'hydraulique de ces secteurs est recommandée.

5.4 Caractérisation des points d'utilisation

Les robinets ont été classés en 3 principales catégories, selon leur mode d'activation : conventionnel, électronique et à pédale. Ensuite, la présence d'un mitigeur était notée, qu'il possède un contrôle de température accessible à l'utilisateur ou non. Enfin, la marque du robinet et les matériaux de connexion ont été notés lorsque l'information était disponible.

5.4.1 Caractéristiques physiques

Dans l'aile A, 14 robinets ont été caractérisés. Cinq robinets sont de type électroniques et mitigés, de marque Hansa Cobra et un seul robinet conventionnel possède un mitigeur. Le seul robinet à pédale étudié se trouve en soins intensifs. Dans l'aile B, 13 robinets ont été caractérisés, dont un seul robinet électronique. Il est important de noter que contrairement aux robinets électroniques de l'aile A, celui-ci ne possède pas de contrôle de température accessible à l'utilisateur, ce qui a été démontré comme un important facteur de risque pour la contamination des robinets (Charron et al., 2015). Cette étude suggère aussi que les robinets à pédales sont plus à risque de contamination bactérienne en raison de la longueur de conduite de raccordement après le mélange d'eau chaude et froide, qui stagne entre les utilisations (Charron et al., 2015). Un robinet à pédale a aussi été étudié en néonatalogie. Les différents types de robinets ainsi que la répartition du nombre d'échantillons par type de robinet sont présentés au Tableau 5.2.

Tableau 5.2 : Répartition des robinets dans les ailes A et B selon le type de robinet

Aile / Type robinet	Conventionnel	Electronique		Pédale
		Avec contrôle T°C	Sans contrôle T°C	
A	57% (8/14)	36% (5/14)	0%	7% (1/14)
B	85% (11/13)	0%	8% (1/13)	8% (1/13)

Seulement 2 robinets à pédale ont été échantillonnés dans cette étude. Un des 2 avait un filtre Pall installé pour chacun des échantillonnages, menant à des résultats négatifs. Le deuxième robinet à pédale présentait une contamination au-dessus du seuil d'alerte en dépit de la présence de tuyauterie de connexion en cuivre. En culture, les faibles résultats obtenus sont probablement liés à

l'exposition au cuivre dans la conduite de connexion entre le mitigeur à pédale et le robinet. Le cuivre agit comme inhibiteur de culture, mais ne tue pas *Lp* (Lu et al., 2014).

Tableau 5.3 : Résultats moyens en *L.pneumophila* par type de robinet, résultats de 3 échantillonnages combinés

	N rob	N éch	Culture		qPCR	
			% pos	Moy des positifs (UFC/mL)	% pos	Moy des positifs (UG/mL)
Élect avec contrôle T°	4	10	6	125	100	20970
Élect sans contrôle T°	1	2	100	10000	100	64000
Conventionnels	9	24	38	2760	96	8741
Pédales	2	6	50	103	50	24633

Les robinets conventionnels et électroniques avec contrôle de température ressortent comme ayant de moins haut taux de contamination et des moyennes plus faibles. De façon générale, on ne note peu de différence entre les robinets conventionnels et les robinets électroniques avec contrôle de la température.

5.4.2 Profils de température

Afin d'évaluer la capacité du réseau à maintenir ce point de consigne, des profils de températures ont été générés pour 23 points d'utilisation répartis dans les deux ailes. Dans l'aile A, on constate sur la Figure 5.5 que 67% des robinets atteignent 55°C en moins de 6L (1 minute). L'importante variation du profil pour les premiers 4 litres selon le robinet évalué peut être attribuée aux différentes longueurs de connexion ou à l'usage précédent du robinet. En effet, ces profils ont été faits à des moments aléatoires de la journée, sans stagnation préalable. Ainsi, un robinet qui a été utilisé plus récemment pourra atteindre sa température maximum plus rapidement si l'eau dans les conduites de connexion n'a pas encore perdu sa chaleur. Certains des robinets qui n'atteignent pas des températures de 55°C sont des robinets mitigés.

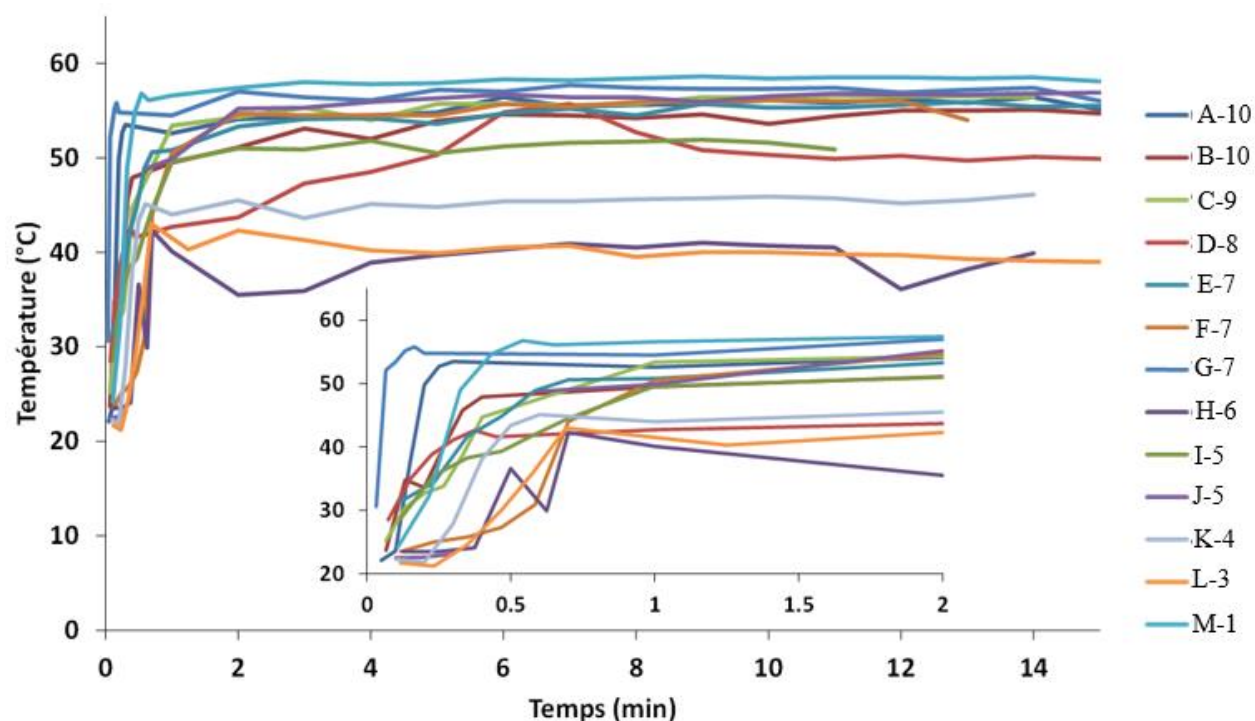


Figure 5.5: Température aux robinets dans l'aile A en fonction du volume écoulé. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016)

Les robinets échantillonnés dans l'aile B atteignent en général une température maximum plus élevée que dans l'aile A (58°C vs 55°C) et ce plus rapidement (Figure 5.6). La température se

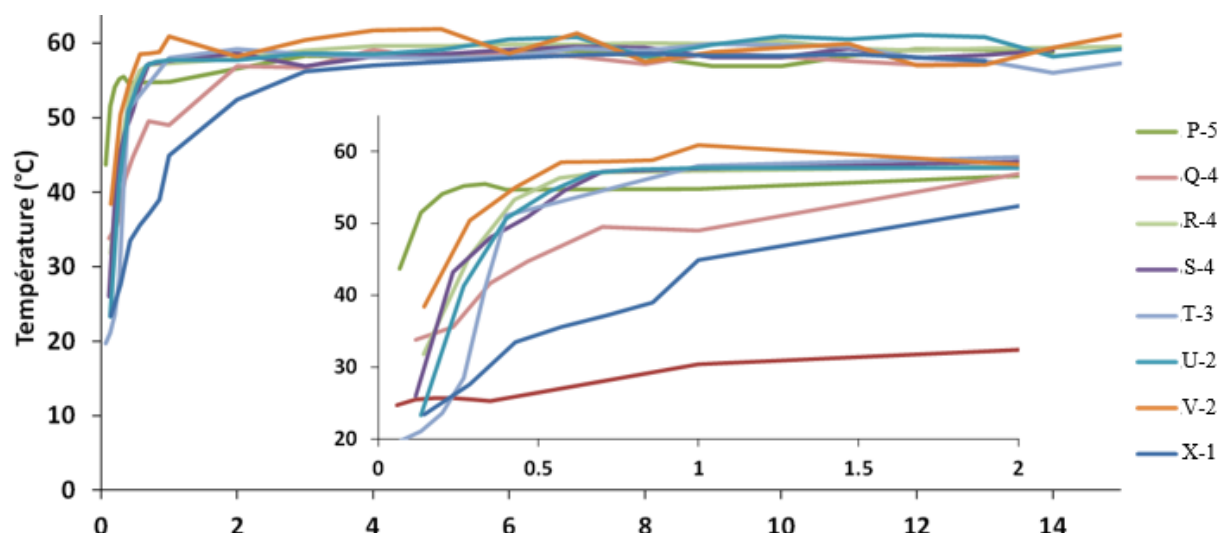


Figure 5.6 : Températures aux robinets dans l'aile B en fonction du volume écoulé. Tirée de (Bédard, Boppe, et al., 2016)

maintient dans le temps à une valeur supérieure ou égale à la recommandation de 55°C pour tous les robinets sauf un, qui est un robinet thermostaté (mitigé sans contrôle de température).

Chaque système étudié est équipé d'un ionisateur permettant d'augmenter la concentration en ions cuivre et argent dans le réseau d'eau chaude. Les 2 ionisateurs sont opérés avec des anodes dont l'alliage est 99% cuivre et 1% argent.

L'ionisateur de l'aile B est plus ancien et le que celui de l'aile A et n'a pu être identifié. Des doutes sur son efficacité ont été exprimés par l'équipe technique de l'hôpital. La consigne des ionisateurs du CIUSSS-Estrie CHUS Fleurimont est basée sur le cuivre seulement et est de 400 µg/L. Afin d'évaluer l'efficacité des ionisateurs, des mesures de cuivre et argent ont été effectuées en eau chaude et en eau froide, pour chacun des 23 robinets choisis, soit 13 dans l'aile A et 10 dans l'aile B. Deux types d'échantillons ont été pris : 1) après 15 minutes de rinçage (évaluation de la concentration dans le système) et 2) après 30 minutes de stagnation (évaluation de la contribution des matériaux de connexion utilisés). En présence de conduites de cuivre, les concentrations en cuivre seront plus élevées après stagnation.

Le Tableau 5.4 résume les concentrations moyennes en cuivre et en argent mesurées dans l'eau chaude et froide des 2 ailes, après écoulement et après stagnation. Les concentrations en cuivre mesurées à l'entrée en eau froide dans le bâtiment étaient de 80 µg/L pour l'aile A et de 108 µg/L pour l'aile B. Les concentrations en argent à l'entrée d'eau froide étaient sous la limite de détection (0,000698 µg/L) dans les deux ailes. Les concentrations en argent mesurées en eau chaude sont plus de 1000X inférieures aux valeurs recommandées (Health and Safety Executive (HSE), 2013), qui devraient représenter 10% des concentrations en cuivre pour un traitement cuivre-argent efficace.

Tableau 5.4 : Concentrations en cuivre et argent mesurées dans l'eau froide et chaude pour les ailes A et B

		Cuivre (µg/L) (moyenne ± écart type)		Argent (µg/L) (moyenne ± écart type)	
		Eau chaude	Eau froide	Eau chaude	Eau froide
Aile A	15 min rinçage	332±38	103±40	0,014±0,004	Non détecté
	30 min stagnation	399±66	215±65	0,016±0,008	Non détecté
Aile B	15 min rinçage	266±44	45±14	0,01±0,003	Non détecté
	30 min stagnation	357±75	184±52	0,01±0,003	Non détecté

Au niveau du cuivre, on constate que les concentrations après écoulement en eau chaude sont nettement plus élevées qu'en eau froide (Tableau 5.4). L'influence du matériau de conduite lors de la stagnation est remarquable en eau froide, surtout dans l'aile A. On note aussi que de façon générale, le point de consigne n'est pas maintenu dans le système (après rinçage). Il est possible que l'emplacement du point de lecture du cuivre pour l'ajustement en continue ne soit pas adéquat. Celui-ci se situe sur la boucle de retour avant le chauffe-eau, ne tenant ainsi pas compte de l'eau froide ajoutée par le biais de la valve Brain. Cet ajout d'eau froide produit un effet de dilution plus ou moins grand selon le débit relatif et la concentration en ions se retrouve diminuée. Toutefois, la comparaison des concentrations mesurées dans l'eau chaude et dans l'eau froide après écoulement permet d'estimer l'apport en cuivre lié aux ionisateurs à un peu plus de 200 µg/L (229 µg/L dans l'aile A et 221 µg/L dans l'aile B ;Tableau 5.4). De façon similaire, la comparaison des valeurs après rinçage et après stagnation montre une nette participation des tuyaux dans l'apport en cuivre autant en eau froide qu'en eau chaude. Une augmentation moyenne de 125 µg/L en eau froide et 75 µg/L en eau chaude est observée après 30 minutes de stagnation. En eau froide, on observe que les données sont plus dispersées après la stagnation qu'après les 15 minutes de rinçage, suggérant un impact variable du point d'utilisation sur la concentration en cuivre, dépendamment de facteurs tels les matériaux de la tuyauterie de connexion, le type d'équipement, le volume d'eau stagnant (distance par rapport à la conduite secondaire en circulation malgré la stagnation au point échantillonné). Les valeurs de cuivre en eau froide permettent d'estimer la contribution des conduites à la concentration en cuivre présente dans l'eau au robinet.

En résumé, les concentrations en cuivre mesurées après écoulement (système) sont inférieures au point de consigne dans les 2 ailes. Dans l'aile A, les concentrations sont toutefois en moyenne près du point de consigne et peuvent être considérées comme satisfaisantes. Les concentrations dans l'aile B sont en moyenne plus faible et l'ionisateur devrait être évalué. Les mesures après stagnation ont révélé un apport significatif de la tuyauterie sur la concentration en cuivre mesurées dans l'eau.

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

Les deux hôpitaux étudiés connaissaient des architectures différentes : une ou plusieurs boucles de recirculation, distribution par une ou plusieurs colonnes, distribution de l'eau chaude par un ou plusieurs étages, etc. Ces différences ne permettaient pas au prime abord d'aborder le problème de la même manière. Des problèmes locaux empêchent le bon fonctionnement du réseau hydraulique et doivent être traités de façon individuelle mais des grandes lignes d'étude ont pu être tirées de nos deux analyses. Un procédé en « entonnoir », c'est-à-dire du plus général au plus local, permet d'aborder les problèmes de façon méthodique et ce, pour la grande majorité des architectures de réseaux hydrauliques. Tout d'abord, les travaux présentés dans ce mémoire mettent en évidence l'importance critique de bien connaître les réseaux de distribution d'eau de grands bâtiments pour pouvoir en faire une gestion permettant de contrôler et réduire le risque de légionelles. Bien que cette connaissance soit parfois limitée en raison des plans d'origine qui n'ont pas été mis à jour au fur et à mesure que des changements étaient effectués sur le réseau, il est primordial de mettre à niveau cette connaissance, que ce soit par le biais d'un repérage sur le terrain, de mesures de températures, de pressions ou de débits. Ces données sont essentielles pour identifier les zones stagnantes et de faible circulation, ainsi que les secteurs du bâtiment qui sont hydrauliquement défavorisés et qui ne parviennent pas à maintenir les températures de consignes de 55°C jusqu'au robinet pour contrôler la prolifération de la légionelle. Cette investigation permettra aussi de repérer des problèmes inconnus des services techniques tels que des conduites non utilisées ou bien une mitigation par l'eau froide voire tiède, non désinfectée par le passage dans le chauffe-eau. La présence de valves anti-retour, le diamètre des conduites et les matériaux utilisés sont des informations qui pourront s'avérer utiles lors de l'investigation d'une zone déficiente.

Les résultats ont entre autres montré que le balancement hydraulique d'un réseau, l'optimisation de la pompe principale de recirculation et la résolution de zones de circulation déficiente (circulation inversée, stagnation prolongée, intrusion d'eau froide) sont les éléments clés pour atteindre et maintenir une distribution de températures uniforme et adéquate à travers le réseau. Ceci est toutefois possible seulement dans la mesure où l'unité de production d'eau chaude peut fournir une eau chaude à une température de 60°C et plus en tout temps.

A la suite de la mise en place des mesures correctives, le rétablissement d'un niveau de risque considéré « bas » est loin d'être immédiat. Même si les températures recherchées sont atteintes,

quelques mois voire années sont nécessaires à la diminution des légionelles sous un seuil acceptable. Ceci est notamment dû au fait que les légionelles se trouvent très majoritairement dans le biofilm, plus fastidieux à enlever. Ainsi, les efforts doivent être maintenus à long terme afin de pouvoir se débarrasser du biofilm. Même si la positivité ne diminue pas, c'est la concentration qui est surtout à suivre pendant les premiers mois : une stagnation voire une augmentation de la concentration à un certain point d'échantillonnage indique une contamination locale tandis qu'une diminution générale de la contamination montrera l'efficacité des mesures.

CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Plus particulièrement, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- L'absence d'un différentiel de pression à la pompe de recirculation principale peut être indicatrice de la présence d'une boucle préférentielle permettant à l'eau chaude de court-circuiter le reste du système.
- Les pompes secondaires utilisées dans certaines ailes en présence de problèmes de circulation provoquent des inversions d'écoulement local en créant des boucles de circulation interne.
- La présence d'un système de désinfection secondaire peut donner un faux sentiment de sécurité. Il est essentiel de s'assurer que l'hydraulique du réseau permet au désinfectant de se rendre jusqu'au point d'utilisation et qu'une résistance au désinfectant ne s'installe pas au fil des ans. Plus particulièrement, l'efficacité du traitement aux ions cuivre-argent à long terme dans des réseaux en cuivre doit être mieux étudiée.
- En présence d'une prévalence importante en *L. pneumophila* et de niveaux de contamination élevés, la désinfection choc thermique est un traitement à considérer, mais son application dans un réseau hydrauliquement déficient ne sera pas optimale, ce qui pourrait nuire à son efficacité.

Recommandations :

Les principales recommandations suites aux études décrites dans ce mémoire sont les suivantes :

1. Documenter la structure et le fonctionnement du réseau d'eau chaude et effectuer une vérification de son fonctionnement réel (débits et pressions) au niveau de l'architecture principale (alimentation et boucles de recirculation principales)
2. Installer des points de mesure des températures en continu en sortie de chauffe-eau ainsi que sur les principales boucles de recirculation
3. Effectuer un diagnostic de température par l'utilisation de sondes amovibles externes en continu et de profils de températures aux points d'utilisation.
4. Vérifier la présence de dispositifs susceptibles aux mélanges d'eau froide et installer des clapets anti-retours pour prévenir ces mélanges.

Des commentaires et recommandations plus détaillés sont aussi proposés :

Au niveau du système :

- Les valves de mitigation présentent en sortie de chauffe-eau pour baisser la température de l'eau à une température constante sont à éviter. Ces valves peuvent réduire le temps de contact de l'eau à des températures plus élevées et permettent l'ajout d'eau froide ou recirculée n'ayant pas préalablement passée dans le chauffe-eau. De plus, ces équipements permettent de se conformer à la réglementation en produisant une eau à 60°C, tout en envoyant une eau à température inférieure dans le réseau. Il est conseillé d'éviter l'installation de tels équipements et de considérer leur désinstallation si elles sont déjà présentes.
- Lors d'interruption non planifiée du chauffe-eau, il faut pouvoir détecter une chute prolongée de la température afin de réagir rapidement lorsque la température passe sous le point de consigne plus d'une heure.
-
- Si présence d'un ionisateur, mesurer la concentration dans une conduite en circulation et sans mitigation par l'eau froide pour éviter l'effet de dilution. Les recommandations se placent entre 200 et 800 µg/L. Prêter attention au pourcentage d'ions argent (10% des ions cuivre).
- S'il y a présence de pompe(s) secondaire(s), les arrêter pour rétablir un équilibre dans le réseau
- Dans le cas où une déficience de la recirculation est repérée, vérifier s'il y a un différentiel de pression au niveau de la pompe principale.

Au niveau des boucles secondaires de recirculation :

- Détecter les zones de pertes de chaleur supérieures à 10°C en priorité : elles représentent des zones de stagnation forte. Investiguer l'hydraulique dans ces secteurs (vitesse de 0.2 m/s, températures)
- Détecter les zones d'inversion d'écoulement à l'aide des températures ($T_{\text{Eau chaude}} < T_{\text{Eau recirculée}}$) ou de débitmètres : un mauvais équilibre hydraulique peut être à l'origine de

pressions défavorables et de courts-circuits hydrauliques. Considérer aussi l'intrusion d'eau froide en surveillant les débits.

- Pour rétablir un équilibre hydraulique, mesurer les températures des conduites alimentant les différents secteurs de l'hôpital pour déterminer la répartition hydraulique de l'eau chaude. Les secteurs les plus favorisés peuvent être réduits en alimentation d'eau chaude par des restricteurs de débits, ce qui forcera la circulation dans les autres secteurs moins privilégiés.
- Investiguer la présence de bras morts et de zones de faible circulation, corriger rapidement.

Au niveau des points d'utilisation :

- S'assurer qu'une température de 55°C est obtenue en 1-2 minutes aux robinets, notamment les plus éloignés du chauffe-eau et ceux placés à proximité de patients à risque.
- Si la température de 55°C n'est pas atteinte, investiguer le fonctionnement du point d'utilisation : clapet brisé, mélange d'eau froide et chaude, ligne d'alimentation mal desservie par la recirculation.
- Repérer les robinets peu ou pas utilisés : procéder à des rinçages fréquents ou condamner le robinet si son maintien n'est pas nécessaire. Par exemple, un robinet placé très proche d'un autre aura plus de chance de stagner.
- Pour les robinets peu utilisés la fin de semaine ou placés dans une chambre non occupée, déterminer le risque associé (patients vs. personnel) et considérer la mise en place de rinçages en début de semaine (2-3 minutes) à l'eau chaude.
- Lors d'une désinfection thermique, procéder par colonne et par étage, si applicable. Commencer par rincer le point le plus haut et le plus éloigné de la boucle horizontale. Rincer les points pendant une durée d'au moins 5 minutes à 70°C en reculant dans le réseau (du plus loin au plus près dans le réseau). Pour les patients les plus à risque et/ou pour les robinets les plus contaminés, procéder à un rinçage plus long (15-20 minutes).
- Poser des clapets supplémentaires de haute qualité sur les robinets mitigés

BIBLIOGRAPHIE

- (CDC), C. f. D. C. a. P. (2015). Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water — United States, 2011–2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 64(31), 842-848.
- Abdel-Nour, M., Duncan, C., Low, D. E., & Guyard, C. (2013). Biofilms: the stronghold of *Legionella pneumophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), 21660-21675. doi: 10.3390/ijms141121660
- Allegra, S., Berger, F., Berthelot, P., Grattard, F., Pozzetto, B., & Riffard, S. (2008). Use of flow cytometry to monitor *Legionella* viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(24), 7813-7816. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01364-08>
- Allegra, S., Grattard, F., Girardot, F., Riffard, S., Pozzetto, B., & Berthelot, P. (2011). Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against *legionella* spp. In hospital water systems by using a flow cytometric assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4), 1268-1275
- Armon, R., Starosvetsky, J., Arbel, T., & Green, M. (1997). Survival of *Legionella pneumophila* and *Salmonella typhimurium* in biofilm systems. *Water Science and Technology*, 35(11-12), 293-300. Retrieved from <http://www.iwaponline.com/wst/03511/wst035110293.htm>
- Arvand, M., Jungkind, K., & Hack, A. (2011). Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: do we know the true dimension? *Eurosurveillance*, 16(16), 6. Retrieved from <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19844>
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (2010). *Qualité de l'eau - Détection et quantification des Legionella et/ou Legionella pneumophila par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (RT-PCR)*.
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (2014). *Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement de Legionella spp et de Legionella pneumophila - Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation*. La Plaine Saint-Denis, France. Retrieved from <http://www.boutique.afnor.org/norme/nf-t90-431/qualite-de-l-eau-recherche-et-denombrement-de-legionella-spp-et-de-legionella-pneumophila-methode-par-ensemencement-direct-e/article/814289/fa182801?aff=550>
- Australian/New Zealand Standard (AS/NZS). (2011). *Air-handling and watersystems of buildings- Microbial control. Part 2: Operation and maintenance*.
- Austrian Standards Institute. (2007). *Hygienerelevante Planung, Ausführung, Betrieb, Wartung, Überwachung und Sanierung von zentralen Trinkwasser-wärmungsanlagen*.
- Barbosa, V. L., & Thompson, K. C. (2016). Controlling *Legionella* in a UK hospital using copper and silver ionisation—A case study (in press). *Journal of Environmental Chemical Engineering*. doi: 10.1016/j.jece.2016.06.016

- Baron, J. L., Vikram, A., Duda, S., Stout, J. E., & Bibby, K. (2014). Shift in the microbial ecology of a hospital hot water system following the introduction of an on-site monochloramine disinfection system. *PLoS One*, 9(7), e102679. doi: 10.1371/journal.pone.0102679
- Bartram, J., Chartier, Y., Lee, J. V., Pond, K., & Surman-Lee, S. (2007). *Legionella and the prevention of legionellosis*. Geneva: World Health Organization 2007.
- Bédard, E., Boppe, I., Kouamé, S., Martin, P., Pinsonneault, L., Valiquette, L., . . . Prévost, M. (2016). Combination of heat shock and enhanced thermal regime to control the growth of a persistent *Legionella pneumophila* strain. *Pathogens*, 5(2), 35. Retrieved from <http://www.mdpi.com/2076-0817/5/2/35>
- Bédard, E., Fey, S., Charron, D., Lalancette, C., Cantin, P., Dolcé, P., . . . Prévost, M. (2015). Temperature diagnostic to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems. *Water Research*, 71 244-256. doi: 10.1016/j.watres.2015.01.006
- Bédard, E., Lévesque, S., Paranjape, K., Lalancette, C., Dolcé, C.-É., Villion, M., . . . Prévost, M. (2016, Oct 16-18). *Unintended consequences of energy conservation devices on Legionella proliferation*. Paper presented at 17th Canadian National Conference on Drinking Water (NDWC), Ottawa, ON, Canada.
- Blanc, D. S., Carrara, P., Zanetti, G., & Francioli, P. (2005). Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: seven years of experience in a university teaching hospital. *The Journal of hospital infection*, 60(1), 69-72. doi: 10.1016/j.jhin.2004.10.016
- Boucher, I., Blais, P., & Vive en Ville. (2010). *Le bâtiment durable, Guide de bonnes pratiques sur la planification territoriale et le développement durable*. Québec, Canada: Gouvernement du Québec, Ministère des Affaires municipales du Québec, des Régions et de l'Occupation du territoire (MAMROT)
- Brousseau, N., Lévesque, B., Guillemet, T. A., Cantin, P., Gauvin, D., Giroux, J. P., . . . Dewailly, E. (2012). Contamination of public whirlpool spas: Factors associated with the presence of *Legionella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *International Journal of Environmental Health Research* 1-15. doi: 10.1080/09603123.2012.678001
- Brown, C. M., Nuorti, P. J., Breiman, R. F., Hathcock, A. L., Fields, B. S., Lipman, H. B., . . . Cetron, M. (1999). A community outbreak of Legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: An epidemiological method to calculate dose of exposure. *International Journal of Epidemiology*, 28(2), 353-359. Retrieved from <http://ije.oxfordjournals.org/content/28/2/353.long>
- BSR/ASHRAE. (2011). *Proposed new standard 188, prevention of legionellosis associated with building water systems*.
- Bujak, J. (2010). Heat consumption for preparing domestic hot water in hospitals. *Energy and Buildings*, 42(7), 1047-1055. doi: 10.1016/j.enbuild.2010.01.017
- Burman, N. P., & Colbourne, J. S. (1977). Techniques for the assessment of growth of micro-organisms on plumbing materials used in contact with potable water supplies. *Journal of Applied Bacteriology*, 43(1), 137-144. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.1977.tb00732.x/pdf>

- Buse, H. Y., Schoen, M. E., & Ashbolt, N. J. (2012). *Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure. *Water Research*, 46(4), 921-933. doi: 10.1016/j.watres.2011.12.022
- Carvalho, F., Nastasi, F., Gamba, R., Foronda, A., & Pellizari, V. H. (2008). Occurrence and diversity of legionellaceae in polar lakes of the Antarctic Peninsula. *Current Microbiology*, 57(4), 294-300. doi: 10.1007/s00284-008-9192-y
- Castex, J., & Houssin, D. (Eds.). (2005). *L'eau dans les établissements de santé*. France: Ministère de la Santé et des Solidarités.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2003). *Guidelines for environmental infection control in health-care facilities*. Atlanta, Georgia, USA: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), United States Department of Health and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Retrieved from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5210a1.htm>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), & Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). (2013). *Surveillance of Waterborne disease outbreaks associated with drinking water and other nonrecreational water - United States, 2009-2010*. Weekly. Retrieved from http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6235a3.htm?s_cid=mm6235a3_w
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), & U. S. Department of Health and Human Services. (2016). *Legionnaires' disease. Use water management programs in buildings to help prevent outbreaks*. Atlanta, GA, USA: Retrieved from <http://www.cdc.gov/vitalsigns/legionnaires/>
- Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB). (2012). *Guide technique - Maîtrise du risque de développement des légionelles dans les réseaux d'eau chaude sanitaire - Défaillances et préconisations*.
- Charron, D., Bédard, E., Lalancette, C., Laferrière, C., & Prévost, M. (2015). Impact of electronic faucets and water quality on the occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* in water: A multi-hospital study. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 36(3), 311-319. doi: 10.1017/ice.2014.46
- Chen, Y. S., Lin, Y. E., Liu, Y. C., Huang, W. K., Shih, H. Y., Wann, S. R., . . . Chang, C. L. (2008). Efficacy of point-of-entry copper-silver ionisation system in eradicating *Legionella pneumophila* in a tropical tertiary care hospital: implications for hospitals contaminated with *Legionella* in both hot and cold water. *Journal of Hospital Infection*, 68(2), 152-158. Retrieved from http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIImg&_imagekey=B6WJP-4RKDHHK-1-1&_cdi=6884&_user=2101137&_pii=S0195670107003908&_origin=&_coverDate=02%2F29%2F2008&_sk=999319997&view=c&wchp=dGLbVlz-zSkWB&md5=e53ed64b775510d108a38412702cbf42&ie=/sdarticle.pdf
- Ciesielski, C. A., Blaser, M. J., & Wang, W. L. (1984). Role of stagnation and obstruction of water flow in isolation of legionella pneumophila from hospital plumbing. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(5), 984-987. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6508313>

- Colbourne, J. S. (1985). Materials usage and their effects on the microbiological quality of water supplies. *Journal of Applied Microbiology*, 59 47S-59S. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.1985.tb04890.x/pdf>
- Colbourne, J. S., Pratt, D. J., Smith, M. G., Fisher-Hoch, S. P., & D., H. (1984). Water fittings as sources of *Legionella pneumophila* in a hospital plumbing system. *The Lancet*, 323(1), 210-213. Retrieved from Il y a une copie papier dans la salle des archives
- Collier, S. A., Stockman, L. J., Hicks, L. A., Garrison, L. E., Zhou, F. J., & Beach, M. J. (2012). Direct healthcare costs of selected diseases primarily or partially transmitted by water. *Epidemiology and Infection*, 140(11), 2003-2013. doi: 10.1017/S0950268811002858
- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013a). *Bonnes pratiques plomberie - Conception d'une boucle de recirculation d'eau chaude (Partie 2)*. Retrieved from https://www.rbq.gouv.qc.ca/publications.html?tx_cspqlistagedam_pi2%5Bkeyword%5D=fiche
- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013b). *Bonnes pratiques plomberie - Nouvelle réglementation sur la température de l'eau chaude*. Retrieved from https://www.rbq.gouv.qc.ca/publications.html?tx_cspqlistagedam_pi2%5Bkeyword%5D=fiche
- Darelid, J., Lofgren, S., & Malmvall, B. E. (2002). Control of nosocomial Legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55°C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. *The Journal of hospital infection*, 50(3), 213-219. doi: 10.1053/jhin.2002.1185
- Demirjian, A., Lucas, C. E., Garrison, L. E., Kozak-Muiznieks, N. A., States, S., Brown, E. W., . . . Hicks, L. A. (2015). The Importance of clinical surveillance in detecting Legionnaires' disease outbreaks: A large outbreak in a hospital with a *Legionella* disinfection system—Pennsylvania, 2011–2012. *Clinical Infectious Diseases*. doi: 10.1093/cid/civ153
- Dennis, P. J., Taylor, J. A., Fitzgeorge, R. B., Bartlett, C. L., & Barrow, G. I. (1982). *Legionella pneumophila* in water plumbing systems. *The Lancet*, 1(8278), 949-951. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6122781>
- Department of Health (DH), & Estates and Facilities Division. (2006). *Water systems : health technical memorandum 04-01 : The control of Legionella, hygiene, "safe" hot water, cold water and drinking water systems. Part B: Operational management*. London, Great Britain: Department of Health.
- Dondero, T. J., Rendtorff, R. C., Mallison, G. F., Weeks, R. M., Levy, J. S., Wong, E. W., & Schaffner, W. (1980). An outbreak of legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *New England Journal of Medicine*, 302(7), 365-370. doi: doi:10.1056/NEJM198002143020703
- Douterelo, I., Sharpe, R. L., & Boxall, J. B. (2013). Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system. *Water Research*, 47(2), 503-516. doi: 10.1016/j.watres.2012.09.053

- Dutch Working Party Infection Prevention. (2007). *Prevention of infections through water and water-using equipment*.
- DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water. (2004). *Technical Rule: Code of Practice W 551. Drinking water heating and drinking water piping systems; technical measures to reduce Legionella growth; design, construction, operation and rehabilitation of drinking water installations*.
- Eboigbodin, K. E., Seth, A., & Biggs, C. A. (2008). A review of biofilms in domestic plumbing. *Journal of the American Water Works Association*, 100(10), 131-138. Retrieved from <http://www.awwa.org/files/secure/index.cfm?FileID=143365&ct=5e7f7e74f499f9806b1d49b2d678e50ed40c41ae22daf5d26742a4ad8b848dc5b94c86408834272e0852e6a557e67c0b23a07073024d56686569e2cf03c0c677>
- Exner, M., Kramer, A., Lajoie, L., Gebel, J., Engelhart, S., & Hartemann, P. (2005). Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *American Journal of Infection Control*, 33(5, Supplement), S26-S40. doi: 10.1016/j.ajic.2005.04.002
- Ezzeddine, H., Van Ossel, C., Delmee, M., & Wauters, G. (1989). *Legionella* spp. in a hospital hot water system: effect of control measures. *J Hosp Infect*, 13(2), 121-131. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2567304>
- Feazel, L. M., Baumgartner, L. K., Peterson, K. L., Frank, D. N., Harris, J. K., & Pace, N. R. (2009). Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(38), 16393-16398. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/106/38/16393.full.phtml>
- Fey, S. (2014). *Contrôle et gestion de la légionelle dans les grands bâtiments*. (M.S.c.A, Polytechnique Montréal, Montréal, QC, Canada). Retrieved from <http://publications.polymtl.ca/1470/>
- Fields, B. S. (1993). Legionella and protozoa: interaction of a pathogen and its natural host (Chapter 5). In J. M. Barbaree, R. F. Breiman & A. P. Dufour (Eds.), *Legionella: current status and emerging perspectives*. Washington, DC, USA: American Society for Microbiology.
- Fields, B. S., Benson, R. F., & Besser, R. E. (2002). Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3), 506-526. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=118082&blobtype=pdf>
- Fisher-Hoch, S. P., Tobin, J. O. H., Nelson, A. M., Smith, M. G., Talbot, J. M., Bartlett, C. L. R., . . . Thomas, J. A. (1981). Investigation and control of an outbreak of legionnaires' disease in a district general hospital. *The Lancet*, 317(8226), 932-936. doi: 10.1016/S0140-6736(81)91626-3
- Fliermans, C. B., Cherry, W. B., Orrison, L. H., Smith, S. J., Tison, D. L., & Pope, D. H. (1981). Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Applied Environmental Microbiology*, 41(1), 9-16. Retrieved from <http://aem.asm.org/content/41/1/9.long>
- García, M. T., Jones, S., Pelaz, C., Millar, R. D., & Abu Kwaik, Y. (2007). *Acanthamoeba polyphaga* resuscitates viable non-culturable *Legionella pneumophila* after disinfection. *Environmental Microbiology*, 9(5), 1267-1277. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01245.x>

- Gouvernement du Québec. (2010). *Guide d'intervention : la légionellose dans la communauté - Edition 2009*.
- Government of South Australia, Health Protection Programs, Public Health Services, Public Health and Clinical Systems, Department for Health and Ageing, & On the recommendation of the Chief Public Health Officer. (2013). *Guidelines for the control of Legionella in manufactured water systems in South Australia 2008* (Report No. 9781742435169). Rundle, Australia: Retrieved from <http://www.health.sa.gov.au/>
- Health and Safety Executive (HSE). (2013). *Legionnaires' disease: Technical guidance. Part 2: The control of Legionella bacteria in hot and cold water systems*. United Kingdom: HSE Books.
- Health Facilities Scotland (HFS). (2009). *Flexible water supply hoses: Risk of harmful micro-organisms*.
- Health Safety and Executive (HSE). (2013). *Legionnaires' disease: The control of Legionella bacteria in water systems. Approved code of practice and guidance on regulations*.
- Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), Tablan, O. C., Anderson, L. J., Besser, R., Bridges, C., & Hajjeh, R. (2003). *Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003 - Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee*. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee
- Hines, S. A., Chappie, D. J., Lordo, R. A., Miller, B. D., Janke, R. J., Lindquist, H. A., . . . Taft, S. C. (2014). Assessment of relative potential for *Legionella* species or surrogates inhalation exposure from common water uses. *Water Research*, 56 203-213. doi: 10.1016/j.watres.2014.02.013
- Hruba, L. (2009). The colonization of hot water systems by *Legionella*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16(1), 115-119. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19572483>
- Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), & Gouvernement du Québec. (2009). *Position du Comité sur les infections nosocomiales du Québec sur les risques associés à l'utilisation des robinets électroniques en milieux de soins*.
- Kanamori, H., Weber, D. J., & Rutala, W. A. (2016). Healthcare outbreaks associated with a water reservoir and infection prevention strategies. *Clinical Infectious Diseases*, 62(11), 1423-1435. doi: 10.1093/cid/ciw122
- Katz, S. M., & Hammel, J. M. (1987). The effect of drying, heat, and pH on the survival of *Legionella pneumophila*. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 17(3), 150-156. Retrieved from <http://www.annclinlabsci.org/content/17/3/150.abstract>
- Kilvington, S., & Price, J. (1990). Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. *Journal of Applied Microbiology*, 68(5), 519-525. doi: 10.1111/j.1365-2672.1990.tb02904.x
- Kusnetsov, J., Iivanainen, E., Elomaa, N., Zacheus, O., & Martikainen, P. J. (2001). Copper and silver ions more effective against *Legionellae* than against mycobacteria in a hospital warm water system. *Water Research*, 35(17), 4217-4225. Retrieved from

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIImg&_imagekey=B6V73-4448HSK-T-1&_cdi=5831&_user=2101137&_orig=search&_coverDate=12%2F31%2F2001&_sk=999649982&view=c&wchp=dGLbVzb-zSkWz&md5=1c90926aa356db81098d72ade59c053d&ie=/sdarticle.pdf

- Lautenschlager, K., Boon, N., Wang, Y., Egli, T., & Hammes, F. (2010). Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition. *Water Research*, 44(17), 4868-4877. Retrieved from http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIImg&_imagekey=B6V73-50K5SX5-2-X&_cdi=5831&_user=2101137&_pii=S0043135410005002&_origin=&_coverDate=09%2F30%2F2010&_sk=999559982&view=c&wchp=dGLzVlb-zSkWB&md5=fe7a3bb2559a79b9dbeefaac49ab9ece&ie=/sdarticle.pdf
- Lee, J. V., Lai, S., Exner, M., Lenz, J., Gaia, V., Casati, S., . . . Surman-Lee, S. (2011). An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems. *Journal of Applied Microbiology*, 110(4), 1032-1044. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04957.x
- Leoni, E., De Luca, G., Legnani, P. P., Sacchetti, R., Stampi, S., & Zanetti, F. (2005). Legionella waterline colonization: detection of Legionella species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *Journal of Applied Microbiology*, 98(2), 373-379. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02458.x
- Levesque, S., Plante, P. L., Mendis, N., Cantin, P., Marchand, G., Charest, H., . . . Tremblay, C. (2014). Genomic characterization of a large outbreak of *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains in Quebec city, 2012. *PLoS One*, 9(8), e103852. doi: 10.1371/journal.pone.0103852
- Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J. D., & Faucher, S. P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5 20. doi: 10.3389/fmicb.2014.00258
- Lin, Y. E., Stout, J. E., & Yu, V. L. (2011). Controlling *Legionella* in hospital drinking water: an evidence-based review of disinfection methods. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 32(2), 166-173. doi: 10.1086/657934
- Liu, Z., Lin, Y. E., Stout, J. E., Hwang, C. C., Vidic, R. D., & Yu, V. L. (2006). Effect of flow regimes on the presence of *Legionella* within the biofilm of a model plumbing system. *Journal of Applied Microbiology*, 101(2), 437-442. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02970.x
- Liu, Z. M., Stout, J. E., Boldin, M., Rugh, J., Diven, W. F., & Yu, V. L. (1998). Intermittent use of copper-Silver ionization for *Legionella* control in water distribution systems: A potential option in buildings housing individuals at low risk of infection. *Clinical Infectious Diseases*, 26(1), 138-140. doi: Doi 10.1086/516283
- Lu, J., Buse, H. Y., Gomez-Alvarez, V., Struewing, I., Santo Domingo, J., & Ashbolt, N. J. (2014). Impact of drinking water conditions and copper materials on downstream biofilm microbial communities and *Legionella pneumophila* colonization. *Journal of Applied Microbiology*, 117(3), 905-918. doi: 10.1111/jam.12578
- Manuel, C. M., Nunes, O. C., & Melo, L. F. (2010). Unsteady state flow and stagnation in distribution systems affect the biological stability of drinking water. *Biofouling*, 26(2), 129-

139. Retrieved from http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927010903383448?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%3dpubmed
- Marchesi, I., Cencetti, S., Marchegiano, P., Frezza, G., Borella, P., & Bargellini, A. (2012). Control of *Legionella* contamination in a hospital water distribution system by monochloramine. *American Journal of Infection Control*, 40(3), 279-281. doi: 10.1016/j.ajic.2011.03.008
- Marchesi, I., Ferranti, G., Mansi, A., Marcelloni, A. M., Proietto, A. R., Saini, N., . . . Bargellini, A. (2016). Control of *Legionella* contamination and risk of corrosion in hospital water networks following various disinfection procedures. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(10), 2959-2965. doi: 10.1128/aem.03873-15
- Marchesi, I., Marchegiano, P., Bargellini, A., Cencetti, S., Frezza, G., Miselli, M., & Borella, P. (2011). Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. *Journal of Hospital Infection*, 77(1), 47-51. doi: 10.1016/j.jhin.2010.09.012
- Mòdol, J., Sabria, M., Reynaga, E., Pedro-Botet, M. L., Sopena, N., Tudela, P., . . . Rey-Joly, C. (2007). Hospital-acquired legionnaires disease in a University Hospital: impact of the copper-silver ionization system. *Clinical Infectious Diseases*, 44(2), 263-265. doi: 10.1086/510430
- Muraca, P., Stout, J. E., & Yu, V. L. (1987). Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(2), 447-453. Retrieved from <http://aem.asm.org/content/53/2/447.abstract>
- Mustapha, P., Epalle, T., Allegra, S., Girardot, F., Garraud, O., & Riffard, S. (2015). Monitoring of *Legionella pneumophila* viability after chlorine dioxide treatment using flow cytometry. *Research in Microbiology*, 166(3), 215-219. doi: 10.1016/j.resmic.2015.01.004
- O'Mahony, J., Stanwell-Smith, R. E., Tillett, H. E., Harper, D., Hutchison, J. G. P., Farrell, I. D., . . . Denne, C. (1990). The Stafford outbreak of legionnaires'disease. *Epidemiology and Infection*, 104(3), 361-380. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2271767/>
- Office fédéral de la santé publique. (2008). *Legionella et légionellose*. Retrieved from <http://www.bag.admin.ch/themen/medizin/00682/00684/01084/index.html?lang=fr>
- Oliver, J. D. (2010). Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4). doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x
- Regione Assessorato alla Sanità, Ministero della Sanità Dipartimento della Prevenzione, & Istituto superiore di Sanità Registro Nazionale delle Legionellosi. (2002). *Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano. Documento di linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi* (Publication No. Roma, 4-4-00).
- République Française. (2005). *Guide technique de l'eau dans les établissements de santé*. Retrieved from <http://www.sante.gouv.fr/eau-dans-les-etablissements-de-sante.html>

- République Française. (2010a). *Arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire (JORF n°0033 du 9 février 2010)* (Publication No. NOR: SASP1002960A). Retrieved from PDF_Publications dans répertoire AAAAÉtudiant
- République Française. (2010b). *Circulaire N° DGS/EA4/2010/448 du 21 décembre 2010 relative aux missions des Agences régionales de santé dans la mise en oeuvre de l'arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire.*
- République Française, & Ministère de la Santé et des Solidarités. (2005). *L'eau dans les établissements de santé (Guide technique)* (Publication No. République Française). Paris, France: Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins, Direction Générale de la Santé. Retrieved from http://www.cclinparisnord.org/ACTU_DIVERS/ministEAU2005.pdf
- Rhoads, W. J., Ji, P., Pruden, A., & Edwards, M. A. (2015). Water heater temperature set point and water use patterns influence *Legionella pneumophila* and associated microorganisms at the tap. *Microbiome*, 3 67. doi: 10.1186/s40168-015-0134-1
- Rhoads, W. J., Pruden, A., & Edwards, M. A. (2016). Convective mixing in distal pipes exacerbates *Legionella pneumophila* growth in hot water plumbing. *Pathogens*, 5(1). doi: 10.3390/pathogens5010029
- Rogers, J., Dowsett, A. B., Dennis, P. J., Lee, J. V., & Keevil, C. W. (1994). Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6), 1842-1851. Retrieved from <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/60/6/1842>
- Rohr, U., Senger, M., Selenka, F., Turley, R., & Wilhelm, M. (1999). Four years of experience with silver-copper ionization for control of *Legionella* in a German University Hospital hot water plumbing system. *Clinical infectious diseases*, 29(6), 1507-1511. doi: 10.1086/313512
- Schoen, M. E., & Ashbolt, N. J. (2011). An in-premise model for *Legionella* exposure during showering events. *Water research*, 45(18), 5826-5836. doi: 10.1016/j.watres.2011.08.031
- Schoenen, D. (1989). Influence of materials on the microbiological colonization of drinking water. *Aqua*, 38(2), 101-113. Retrieved from Il y a une copie papier dans la salle des archives
- Storey, M. V., Winiecka-Krusnell, J., Ashbolt, N. J., & Stenström, T. A. (2004). The efficacy of heat and chlorine treatment against thermotolerant *Acanthamoebae* and *Legionellae*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 36(9), 656-662. Retrieved from <http://informahealthcare.com/doi/pdf/10.1080/00365540410020785>
- Sydnor, E. R., Bova, G., Gimburg, A., Cosgrove, S. E., Perl, T. M., & Maragakis, L. L. (2012). Electronic-eye faucets: *Legionella* species contamination in healthcare settings. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 33(3). Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22314059>
- The European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), The European Commission, & The European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC). (2011). *EWGLI technical*

guidelines for the investigation, control and prevention of travel associated legionnaires' diseases.

- Thomas, V., Bouchez, T., Nicolas, V., Robert, S., Loret, J. F., & Levi, Y. (2004). Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in *Legionella* persistence. *Journal of Applied Microbiology*, 97(5), 950-963. Retrieved from <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/118807273/PDFSTART>
- van der Kooij, D., Veenendaal, H. R., & Scheffer, W. J. H. (2005). Biofilm formation and multiplication of *Legionella* in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene. *Water Research*, 39(13), 2789-2798. Retrieved from http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MImg&_imagekey=B6V73-4GMGW6B-1-H&_cdi=5831&_user=2101137&_pii=S004313540500268X&_origin=&_coverDate=08%2F31%2F2005&_sk=999609986&_view=c&_wchp=dGLbVzz-zSkWz&_md5=7a4d4ad3ce775866b9c3c51a12255ce2&_ie=/sdarticle.pdf
- Völker, S., Schreiber, C., & Kistemann, T. (2016). Modelling characteristics to predict *Legionella* contamination risk – Surveillance of drinking water plumbing systems and identification of risk areas. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(1), 101-109. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.09.007>
- Water Regulations Advisory Scheme (WRAS). (2006). EPDM flexible hoses (pp. 2).
- Water Regulations Advisory Scheme (WRAS). (2011). Water quality effects of non-metallic materials in flexible hoses and water fitting components (pp. 3).
- Wingender, J., & Flemming, H.-C. (2004). Contamination potential of drinking water distribution network biofilms. *Water Science and Technology*, 49(11-12), 277-286. Retrieved from <http://www.iwaponline.com/wst/04911/0277/049110277.pdf>
- World Health Organization (WHO). (2011). *Water safety in buildings*.
- Zacheus, O. M., & Martikainen, P. J. (1996). Effect of heat flushing on the concentrations of *Legionella pneumophila* and other heterotrophic microbes in hot water systems of apartment buildings. *Canadian Journal Microbiology*, 42(8), 811-818. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8776852>

ANNEXES

ANNEXE 1 Article: Combination of Heat Shock and Enhanced Thermal Regime to Control the Growth of a Persistent *Legionella pneumophila* Strain



Article

Combination of Heat Shock and Enhanced Thermal Regime to Control the Growth of a Persistent *Legionella pneumophila* Strain

Emilie Bédard ^{1,*}, Inès Boppe ¹, Serge Kouamé ², Philippe Martin ³, Linda Pinsonneault ², Louis Valiquette ³, Jules Racine ² and Michèle Prévost ¹

¹ Department of Civil Engineering, Polytechnique Montréal, Montréal, QC H3T 1J4, Canada; ines.boppe@polymtl.ca (I.B.); michele.prevast@polymtl.ca (M.P.)

² CIUSSS—Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke, Sherbrooke, QC J1G 2E8, Canada; skouame.chus@ssss.gouv.qc.ca (S.K.); linda.pinsonneault@usherbrooke.ca (L.P.); jrachine.chus@ssss.gouv.qc.ca (J.R.)

³ Department of Microbiology and Infectious Diseases, Université de Sherbrooke, QC J1K 2R1, Canada; Philippe.Martin@USherbrooke.ca (P.M.); Louis.Valiquette@USherbrooke.ca (L.V.)

* Correspondence: emilie.bedard@polymtl.ca; Tel.: +1-514-340-4711 (ext. 5223); Fax: +1-514-340-5918

Academic Editor: Lawrence S. Young

Received: 15 March 2016; Accepted: 11 April 2016; Published: 15 April 2016

Abstract: Following nosocomial cases of *Legionella pneumophila*, the investigation of a hot water system revealed that 81.5% of sampled taps were positive for *L. pneumophila*, despite the presence of protective levels of copper in the water. A significant reduction of *L. pneumophila* counts was observed by culture after heat shock disinfection. The following corrective measures were implemented to control *L. pneumophila*: increasing the hot water temperature (55 to 60 °C), flushing taps weekly with hot water, removing excess lengths of piping and maintaining a water temperature of 55 °C throughout the system. A gradual reduction in *L. pneumophila* counts was observed using the culture method and qPCR in the 18 months after implementation of the corrective measures. However, low level contamination was retained in areas with hydraulic deficiencies, highlighting the importance of maintaining a good thermal regime at all points within the system to control the population of *L. pneumophila*.

Keywords: legionellosis; sanitary hot water; temperature diagnostic; *Legionella pneumophila*; culture; quantitative polymerase chain reaction; copper concentration; hospital premise plumbing

1. Introduction

Legionella pneumophila is an opportunistic pathogen responsible for a significant number of nosocomial infections. *L. pneumophila* outbreaks reported in hospitals have predominantly been associated with the hot water systems (HWS) within hospital premises [1–4]. The presence of *L. pneumophila* in the HWS of healthcare facilities is well documented, with reports of 10% to 50% positive in water samples from taps and showers [5–9]. Hospital-acquired legionellosis can result in prolonged hospitalization and elevated mortality rates [10]. Although an infectious dose has not been established, a guidance document published by the Health and Safety Executive (HSE) provides recommendations regarding the actions to take in the presence of *Legionella* in the water system at levels above 100 CFU/L [11]. In hospital settings, a dose as low as 10 CFU/mL may be sufficient to cause an infection [12]. Several European countries, such as Austria, France, Germany, Italy, the United Kingdom and Switzerland, have adopted guidelines or regulations that specify an alert level and an action level [11,13–18]. In general, the alert level is set between 100 and 1000 CFU/L and prescribes further investigation to define if there is a system contamination or if the problem is localized.

Corrective actions are recommended for identified issues. There is a consensus to set the action level at 10,000 CFU/L, a high level of contamination at which corrective action should be taken immediately. Alert and action levels for results obtained by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) were suggested at 4000 genomic units (GU)/L and 40,000 GU/L, respectively [19].

The control of *Legionella* to reduce the risk of exposure in healthcare facilities has been addressed in multiple guidance documents [20]. Approaches to control *L. pneumophila* in hot water distribution systems vary considerably, but all guides include objectives or obligations for ensuring optimal operating temperatures at critical points in the distribution systems. A key control measure is to maintain elevated water temperatures and to ensure optimal water circulation through a recirculation loop. Most regulations and guidelines suggest a temperature of 60 °C at the water heater outlet and a minimal water temperature of 55 °C across the network. Recent guidelines also highlight the importance of efficient hydraulics with recommended flow-rates of 0.2 m/s, to ensure homogeneous temperature and biocidal control throughout the hot water system [21]. Previously, diagnostic and assessment tools to evaluate the risk of *L. pneumophila* proliferation were proposed, based on the water temperature at critical control points (the hot water heater outlet, the point-of-use (after 1 to 2 min of water flow) and the recirculation loop) [20].

Ideally, systems should be hydraulically optimized and temperatures maintained throughout the system [11,22]. However, if this cannot be achieved or if sampling results indicate microbial contamination, disinfection should be applied. There are several water disinfection methods used to control *Legionella* in hot water distribution systems [23], including heat shock, implementation of a thermal regime and copper-silver ionization. However, no disinfection method has proven wholly effective, especially against the biofilm established within the pipes. The development of resistance following multiple heat shocks in a hospital hot water distribution system has been documented. The implementation of thermal regimes has successfully been used to reduce the percentage of taps positive for *Legionella* [2,24,25]. Taps that remained positive despite the implementation of a thermal regime were associated with faulty hydraulics and lower water temperatures at the tap [24,25]. Indeed, *Legionella* was reduced in systems where hot water temperatures at the tap exceeded 55 °C within 1 to 2 min of water flow [5,6,20,26]. A review summarizes the successful use of copper silver ionization in several studies reported to reduce levels of *L. pneumophila* in hospital hot water distribution systems [23]. However, there are also reports of unreliable eradication of *L. pneumophila* following copper silver-ionization treatment, which resulted in cases of legionellosis [3,25].

Despite the application of disinfectants or the establishment of thermal regimes, episodes of periodic interruption in the application of the control method can promote system contamination. Monitoring of the microbiological quality of water is needed to determine the efficacy of treatment. However, disinfectants and other environmental stressors are known to induce a viable, but not culturable (VBNC) or intra-amoeba state in *L. pneumophila*, without causing cell death [27,28]. Culture techniques could be an unreliable indicator of the population size of *L. pneumophila* under such conditions. System-wide failure or local hydraulic conditions at the tap (loss of disinfectant or temperature) represent situations where VBNC cells could regain culturability and proliferate, especially in the presence of biofilm. Molecular detection methods, such as quantitative polymerase chain reaction, provide interesting means of monitoring the impact on *L. pneumophila* system contamination following the implementation of new control measures. This method has been used previously for the detection of *L. pneumophila* in water distribution systems [19,29,30].

The present study was conducted at an academic tertiary care hospital where two cases of nosocomial legionellosis were reported in August 2014. An environmental investigation was conducted, and the hot water system was identified as the source of infection. Isolated environmental and clinical strains revealed the same pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns and were also from the same sequence-based type (sequence type-1427). At the time of outbreak, the temperature set point at the water heater outlet was 55 °C, and a temperature of 50 °C was maintained in the main recirculation pipe. A copper-silver ionization system was present in the studied system.

The objectives of this study were to: (1) evaluate short-term *L. pneumophila* survival after thermal disinfection; (2) identify areas at risk due to *L. pneumophila* proliferation, using the temperature diagnostic method; and (3) assess the long-term effects of ongoing thermal controls and hydraulic improvements, at key points-of-use, over an 18-month period, using culture-based and qPCR monitoring approaches.

2. Results and Discussion

The HWS feeding the hospital wing where the outbreak originated (System A) was investigated and monitored closely in the year following the outbreak. A second, independently-operated HWS (System B), feeding an adjacent building wing with no reported cases of legionellosis, was also investigated. Following a full decontamination of each HWS by thermal disinfection, a temperature diagnostic was initiated to identify and prioritize risk areas in each building wing. Corrective measures were put in place, and long-term effects were monitored through periodical sampling of *L. pneumophila*, at various points of the HWS.

2.1. Effect of Thermal Disinfection on *Legionella pneumophila*

A thorough thermal disinfection was conducted, involving the circulation of water at temperatures above 70 °C, for at least 30 min, in all primary and subordinate loops. Primary and subordinate flow and return loops were previously defined [20]. Each point-of-use was flushed for a minimum of 7 min at a temperature ≥ 70 °C. The impact of the thermal disinfection was evaluated by sampling 250 mL of first flush hot water, at different points-of-use. Results suggest that thermal disinfection was successful at reducing levels of culturable *L. pneumophila* in System A, but no change was observed in the levels recovered from System B (Table 1).

Table 1. Mean level of *L. pneumophila* in positive samples before and after thermal disinfection.

<i>L. pneumophila</i> Positivity	System A		System B	
	Before	After	Before	After
Mean <i>L. pneumophila</i> levels ¹ (CFU/L)	27,200	<LD ²	1700	2000
Number of samples	27	20	10	10
% positives	81.5	0	50	40

¹ Calculation only included positive samples; ² LD = limit of detection, 1000 CFU/L.

System B had a larger number of distal points relative to System A. As such, in System B, thermal disinfection was conducted in two separate interventions, one week apart, whereas in System A, a single intervention was required (see Section 3.2). This variation in protocol may have contributed to the reduced effectiveness of thermal disinfection seen in System B. The recirculating loop of the thermally-disinfected section in System B was isolated to prevent recontamination of the piping during the period between interventions. However, in some sectors of System B, sub-optimal recirculation was observed, with some areas requiring up to 20 min to reach hot water system temperatures of 70 °C. It is possible that in these sectors, despite the thermal disinfection procedure, the inability to maintain high temperatures over a long enough period enabled the regrowth of *L. pneumophila*, which reseeded the system through the recirculating loop [11]. Another factor to consider is the initial level of contamination. In System A, initial levels were 10× higher than in System B. Furthermore, the relative effectiveness of the thermal disinfection is based on culture results with a detection limit of 1000 CFU/L. This value is unacceptably high for accurately concluding whether *L. pneumophila* levels proposed in international recommendations and regulations (Table 1) were met in this study. As a result, the sampling protocol and laboratory were changed for the subsequent analysis, as presented in Section 3.4.

2.2. Hot Water System Temperature Diagnostic

The hot water systems were investigated using the previously-proposed diagnostic flow chart [20]. A detailed characterization of both studied systems was performed, followed by principal and subordinate flow loop temperature monitoring. Figure 1 presents a schematic of the studied systems. In both systems, the water from the principal recirculation loop flows into the vertical secondary distribution pipes, which bring water to each floor through a subordinate horizontal loop. System A only has one vertical pipe delivering water to each subordinate horizontal flow loop, whereas four vertical distribution pipes are present in System B (Figure 1).

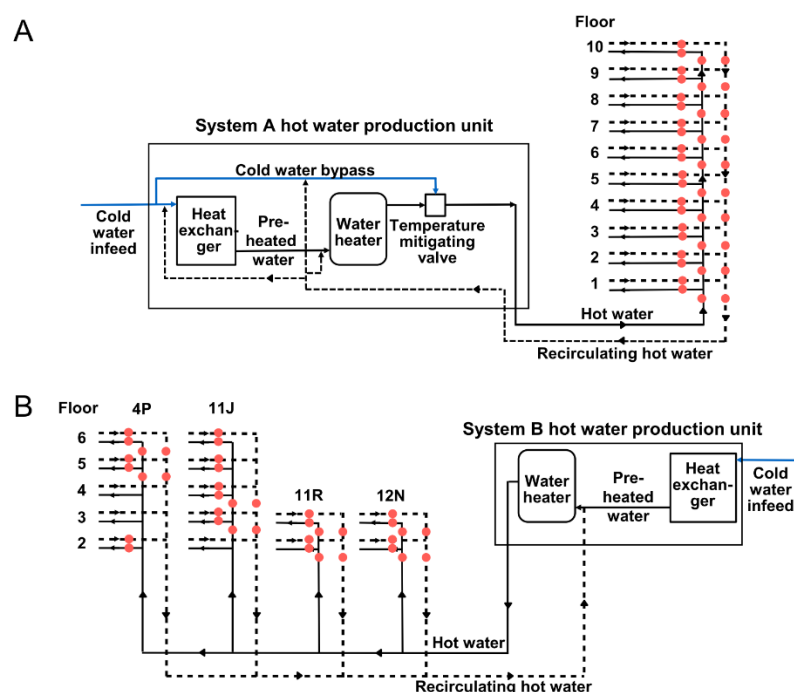


Figure 1. Hot water system schematic for System A (A) and System B (B) where red circles represent the temperature probe location.

2.2.1. Principal Recirculation Loop

The mean hot water temperature coming out of the hot water production unit in System A was 60.3 ± 0.28 °C compared to 60.0 ± 0.1 °C in System B. In System A, the water is heated in a flash heat exchanger to a mean temperature of 70 °C and mitigated to 60 °C by adding recirculating water or make-up cold water as needed (Figure 1a). This results in very stable temperatures feeding into HWS A (Figure S1). On the other hand, although the standard deviation is comparable in both systems, detailed analysis of continuous temperature monitoring results reveals a more important variation in periods of high usage for System B, such as during week days (Figure S1). In System B, the water is heated in a flash heat exchanger to a mean temperature of 60 °C and fed directly into the system without the presence of a mitigating valve. Despite the absence of a mitigating valve, results show the ability of System B to promptly react to temperature fluctuations associated with increased use of hot water for showering and bathing. Principal loop recirculation temperatures, prior to re-entering the

hot water production unit, were 54.7 ± 0.29 °C in System A and 56.2 ± 0.3 °C in System B. The heat loss between the water heater and the return loop is within recommended values of 5 °C and indicates a good overall circulation within the systems. These data confirm the capacity of the water heaters in both systems to provide the required temperatures, more than 90% of the time. However, this apparent compliance with prescribed temperatures only reflects the heat lost from the combined return loop, but does not provide information on the multiple subordinate loops within the systems.

2.2.2. Subordinate Flow and Return Loops

Continuous monitoring of each subordinate flow and return loop in System A was conducted over two weeks. The system architecture is such that each subordinate loop supplies water to a floor and returns to the principal recirculation vertical pipe. Figure 2 shows an example of the temperature distribution within System A at three different times within a representative day. No relation between the floor number and the temperature decrease was observed. However, it was noticed that the temperature drop in the horizontal subordinate loop had an impact on the temperature measured in the principal loop proportional to the water volume flowing back into the principal loop. Results from Figure 2 represent a point in time when hot water usage was high. However, similar trends were observed when considering mean temperatures measured over a two-week period (Table S1). Mean hot water temperatures from the principal and subordinate loops were between 55.8 and 59.2 °C with low variability observed throughout the monitoring period (Table S1). Lower temperatures were measured in the horizontal subordinate loop, with temperature losses of up to 2 °C between vertical and horizontal measuring points at a given floor, despite the close proximity of those points (less than 1 m apart). The monitoring of horizontal subordinate return loop temperatures highlighted significant discrepancies between different floors, with mean temperatures varying from 39.8 to 53.1 °C during the monitoring period (Table S1). Lower temperatures were observed during high demand periods, as shown in Figure 2. These results identify sectors where mean hot water temperatures cannot be maintained at the target value of 55 °C.

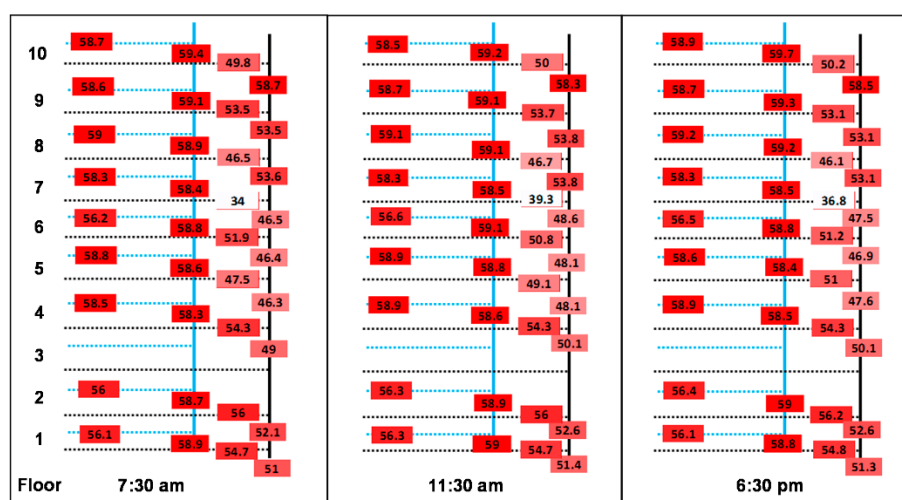


Figure 2. Temperature mapping in System A for principal vertical (full lines) and all horizontal subordinate flow and return loops (dotted lines) on 7 February 2015, at three different times of the day. Blue lines represent hot water, and black lines represent recirculation lines.

These results illustrate how defective hydraulics at specific subordinate loops can go undetected if temperature monitoring is only conducted on the principal flow and return loops. As is the case for the seventh floor, water temperatures of well below 55 °C were consistently recorded in the subordinate return loop. As it merges in with the principal return loop flow, the effect is diluted by water of higher temperature returning from other subordinate loops. The factors that are likely to drive important temperature decreases within a subordinate loop are: (1) the presence of hydraulic deficiencies specific to those areas; (2) the presence of cold water intrusion into the hot water recirculating system; and (3) the lack of pipe insulation. A thorough survey of the piping system revealed no insulation deficiencies. However, detailed investigation revealed that the piping system on the seventh floor had several dead legs. Moreover, the piping configuration is such that convective mixing is possible, which may have implications for *Legionella* growth [31].

The detailed investigation also revealed that five rooms were fed through an independent hot water flow and return loop system, with more than 20 m of piping separating the connections of the subordinate horizontal flow and return loops, from the faucets within the rooms. For this specific loop, monitoring revealed an infeed temperature of 49.5 ± 2.7 °C and a return temperature of 34.1 ± 1.5 °C. Minimal water circulation was also recorded at the average speed of 0.03 ± 0.01 m/s, compared to the mean circulation speed in the subordinate horizontal loop of 0.13 ± 0.02 m/s. The water volume contained within this piping (estimated to be 61.6 L) was therefore quasi-stagnant between water usages. In addition, the presence of three dead legs in the proximity of the connection were identified. All of these factors contributed to the inability of the HWS on the seventh floor to maintain adequate temperatures, with a mean heat loss of 18.2 °C occurring between flow and return loops.

A detailed investigation was also conducted on System B, which has a different configuration than System A (Figure 1). In System B, hot water temperatures feeding into the four risers were not significantly different from those in System A, with mean values between 54.8 and 58.3 °C (Table S1). High-risk areas for *L. pneumophila* growth were identified through temperature diagnostics of the subordinate flow and return loops for each vertical riser. The ground and first floors were fed by a horizontal flow and return loop, independent of the four identified risers. The first floor was fed through multiple loops originating from the ground floor subordinate horizontal flow and return loops. Monitoring was conducted on one of these loops in the vicinity of riser 4P. A temperature loss of 12.4 °C was measured between the flow and return horizontal pipes (Table S1), suggesting defective recirculation in the loop. Upon investigation of the piping within this loop, dead legs equivalent to 30 m of linear piping were identified and removed. A defective valve was also preventing recirculation of water in a large section of the loop.

Significant water temperature reduction in a subordinate flow loop can be caused by numerous factors: (1) prolonged stagnation in dead legs or in low usage areas; (2) insufficient insulation [20]; (3) insufficient recirculation flow rate causing increased residence time and thermal losses, especially during periods of low use, such as night-time; (4) the absence of recirculation in specific sectors due to defective equipment or inadequate hydraulic balancing; (5) flow inversion in piping due to pressure variation during high demand periods; and (6) mixing of cold water with the hot water system through defective valves on faulty taps. The results obtained from temperature diagnostics can be used to identify problem areas and to determine the cause of the temperature decrease, thus allowing remediating action to be taken.

2.2.3. Tertiary Loop and Points-of-Use Characterization

Complete characterization of the sampled faucets was also conducted and is presented in the Supplementary Material (Table S2). As part of the risk classification approach, the measurement of temperatures at the point-of-use provides information on the maximum temperature reached and the time taken to reach this temperature. A temperature of 55 °C should be reached at all taps within 1 to 2 min. Temperature profiles were generated on hot water from 13 taps in System A and eight taps in System B, to evaluate their capacity to deliver appropriate temperatures. Mean temperatures

observed on first flush, after 1 and 2 min of flow and the maximum temperature reached at the tap are summarized in Table 2. Detailed temperature profiles are presented in Figure 3.

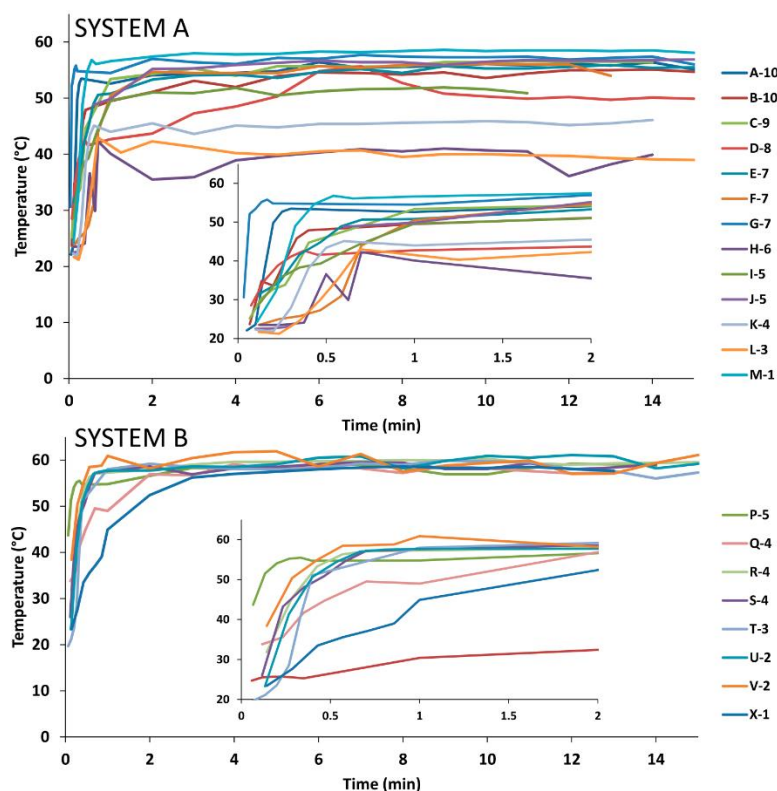


Figure 3. Individual temperature profiles for points-of-use in Systems A and B, with the insert graph zooming in on the first 2 min. The legend indicates the tap as listed in Table S2 with the floor number.

Table 2. Mean hot water temperature measured at the tap in Systems A and B and the percent of taps reaching 55 °C after various flow times.

	<i>n</i>	Mean Temperature \pm SD (°C)				% at 55 °C after 2 min	% $T_{MAX} \geq 55$ °C
		First Flush	1 min	2 min	Max		
System A	13	25.2 \pm 3.4	48.8 \pm 5.4	50.4 \pm 6.6	52.5 \pm 6.1	31%	54%
System B	8	30.0 \pm 8.3	55.0 \pm 5.4	57.2 \pm 2.1	59.0 \pm 1.3	88%	100%

The analysis of temperature profiles revealed that points of utilization located on floors identified as deficient took longer to reach their maximum temperatures (Figure 3). In System A, two mixer faucets recorded temperatures of around 40 °C. These two data points lowered the percentage of taps reaching 55 °C; however, even after excluding these taps from analysis, the percentage of taps reaching 55 °C after 2 min of flow was still below 50%. An issue was also highlighted with the tap located on the eight floor, in System A (Figure 3). This was the only tap that required more than 5 min to reach its maximum temperature and that could not maintain it, over the duration of the profiling. This tap was located in close proximity to where the second case of legionellosis occurred. Despite the

low temperature observed in the subordinate return loop, temperature profiles show the capacity of the system as a whole to draw hot water at the required temperature. This suggests that the low temperatures observed in the return loop are caused by a lack of recirculation and a stagnation of the water at times of low hot water usage.

The absence of residual chlorine in all hot water samples was observed in this study. In addition, the dissolved copper concentration was measured in hot and cold water from a selected number of taps. This enabled quantification of the contribution of the copper-silver ionization system compared to that of the copper piping. Sampling was performed after 15 min of flushing and after a controlled stagnation of 30 min. The value obtained after flushing is an indicator of the concentration of ions provided by the copper-silver ionization system, and the value obtained after stagnation is representative of the ions contributed by the copper piping and components. Results are presented in Table 3. The target concentration for the copper silver ionization system was 400 µg/L of dissolved copper. Results show the failure of both systems to meet the target concentration. The generation of copper-silver ions was driven by a feedback loop system, using the measured copper concentration in the main recirculating pipe prior to the ionization system as the reference value. The value measured in this location does not account for the cold water added into the system to replenish consumed water through hot water usage. In the case of System A, the copper concentrations were closer to the desired level, suggesting that the copper-silver ionization system was capable of providing the desired concentration at the point of copper measurement, but this concentration was insufficient to offset the addition of untreated cold water into the system. Relocating the copper measurement point after the cold water addition would provide a more accurate dosage of ions into the system. Incoming municipal water was a small contributor for copper concentration in the system water, with 80 µg/L measured in System A and 108 µg/L measured in System B, whereas the silver concentration was below the detection limit.

Table 3. Mean dissolved copper and silver concentrations in hot and cold water at the tap after 15 min of flushing and 30 min of stagnation for System A and System B.

System	Prior stagnation	Copper (µg/L)		Silver (µg/L)	
		Hot Water <i>n</i> = 23	Cold Water <i>n</i> = 12	Hot Water <i>n</i> = 23	Cold Water <i>n</i> = 12
System A	15-min flush	332 ± 38	103 ± 40	0.014 ± 0.004	<LD
	30-min stagnation	399 ± 66	215 ± 65	0.016 ± 0.008	<LD
System B	15-min flush	266 ± 44	45 ± 14	0.01 ± 0.003	<LD
	30-min stagnation	357 ± 75	184 ± 52	0.01 ± 0.003	<LD

LD = limit of detection.

Results collected after stagnation indicate an important contribution from the copper piping and other components, to the measured copper concentration. This contribution is also observed in cold water, where the copper concentration increases by more than two-fold after stagnation. The contribution of the connecting pipe from the copper piping to the tap can also be observed when comparing the results of taps connected with copper *versus* flex piping. In cold water, the dissolved copper concentration was significantly higher (50%, $p < 0.05$) in copper-connected taps after stagnation compared to taps connected with flexible hoses. Results also evidence the low concentrations of silver present in water. According to recommendations, the silver ion concentration should represent 10% of the copper concentration. Based on these results, the copper-silver ionization systems were only partially effective at disinfecting water Systems A and B.

This raises questions with regards to the ability of copper-silver ionization to control levels of *L. pneumophila* in hot water systems, in certain conditions. Although copper-silver ionization has been used successfully in hospital water systems [23], its ability to maintain disinfection efficiency over time has been questioned, especially in the absence of other factors limiting *L. pneumophila* growth, such as adequate thermal control. A recent outbreak was reported in a hospital using copper-silver ionization as their principal disinfection method [3]. Mean ion concentrations were of 0.3 mg/L for copper and 0.02 mg/L for silver; values at the lower end of the scale of recommended applicable

concentrations [23]. The authors highlight the low levels or total absence of residual chlorine at the time of the outbreak, likely associated with an increase in organic matter in the water system due to construction work. They also report the failure of 0.4 mg/L of copper combined with 0.04 mg/L of silver ions to reduce the viability of *Legionella* in a 24-h laboratory test [3]. In addition, systems with elevated concentrations of copper were reported in the plumbing of premises lacking a copper-silver ionization system [32].

2.3. *Legionella pneumophila* Occurrence in the Hot Water Systems

Following initial detection of *L. pneumophila* before and after thermal disinfection, an ongoing plan was developed to monitor the evolution of *L. pneumophila* concentrations in the hot water systems. The occurrence was evaluated by culture and qPCR. The percentage positivity did not significantly change through the year following thermal disinfection and the implementation of a thermal regime (Table 4). The significance of the culture method limit of detection is highlighted in the present analysis. In this case, initial evaluation before and after thermal disinfection revealed a percentage positivity that decreased from 85% to 0%, in System A. Follow-up measurements indicated 20% to 45% positivity in System A. This can be attributed to the high limit of detection in the culture method used before and after sampling. For the ongoing monitoring, a different laboratory was used, and the detection limit improved to 10 CFU/L. As a result, the percentage positivity increased to 33% in culture. It should be noted that all samples, except one, were below the detection limit in the initial sampling (1000 CFU/L). The limit of detection is a critical parameter when evaluating the efficiency of disinfection or corrective measures. Culture method detection limits should be improved through increased pre-treatment and filtration of larger volumes of water.

Table 4. Evolution of positivity for *L. pneumophila* by culture and qPCR in Systems A and B.

	System A				System B			
	14 November	15 February	15 July	16 February	14 November	15 February	15 July	16 February
<i>n</i>	9	11	10	10	4	4	3	3
qPCR	100%	91%	90%	20%	100%	100%	100%	0%
Culture	33%	45%	20%	20%	50%	50%	100%	67%

The percentage positivity significantly decreased throughout the monitoring period in System A and was below the recommended 30% positivity [33] for the last two sampling dates. Furthermore, the level of contamination measured by qPCR and culture has steadily decreased over the year following the application of the thermal regime and corrective measures. Figure 4 presents the levels of *L. pneumophila* in System A, measured during each sampling campaign.

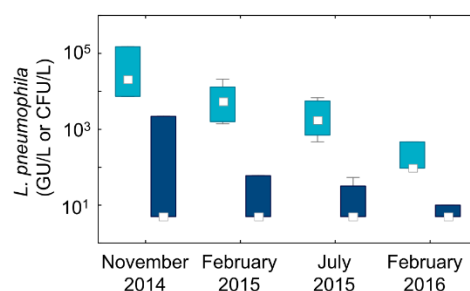


Figure 4. Levels of *L. pneumophila* in System A by qPCR (light blue) and culture (dark blue) as monitored over time. □ = median; boxes = 10%–90%; whiskers = min-max; *n* = 10.

As shown in Figure 4, qPCR results were significantly lower in the samples from February 2016 compared to the previous dates. A reduction of culturable levels is also observed over time in System A, but results were not significantly different when tested with the Kruskal–Wallis test. Nevertheless, levels of culturable *L. pneumophila* were significantly higher prior to thermal disinfection in August 2014 ($p < 0.001$) compared to levels measured over the following 18 months (Table 1, Figure 4).

Despite the reduction in levels measured by culture and by qPCR in the first year, an elevated percentage of contamination remained by qPCR. As such, an investigation of the central water heating unit was initiated in May 2015. The objective was to identify the presence of a potential reservoir promoting the proliferation of *L. pneumophila*, despite the implementation of corrective measures and the maintenance of appropriate temperatures. Sampling of water in the pre-heating unit preceding the water heater revealed contamination of the device with the outbreak strain [34]. It was hypothesized that the heat exchanger acted as an amplification unit for *L. pneumophila*, especially considering the piping system, which allows recirculation water to flow through the heat exchanger, as seen in the piping schematic in Figure 1. The combination of the *L. pneumophila* load in the water returning to the water heater and the favorable growth conditions present in the heat exchanger (surface, temperatures and stagnation) promoted proliferation and led to high-level contamination in hydraulically-deficient areas. The inability to maintain adequate temperatures in those sectors enabled *L. pneumophila* growth.

In System B, the percentage positivity by culture and qPCR was above 30%, except for the last sampling, where qPCR results were all below the detection limit (Table 4). Based on the taps' positivity, System B is still considered at risk. A small subset of four points-of-use was monitored over time. Sampling points were selected in areas of high risk for *L. pneumophila*, according to the results from the diagnostic tool. A significant decrease was observed by qPCR on the last sampling date, but no clear trends were observed in culture (Figure 5). The removal of a total of 30 m of dead leg pipes and the replacement of a deficient valve were done in the ground floor loop feeding tap W. Despite the less efficient thermal disinfection in System B (Section 2.1), the implementation of thermal regime and corrective measures to eliminate hydraulic deficiencies can lead to a reduction of the *L. pneumophila* contamination. Furthermore, the qPCR results suggest a decline in the total population size.

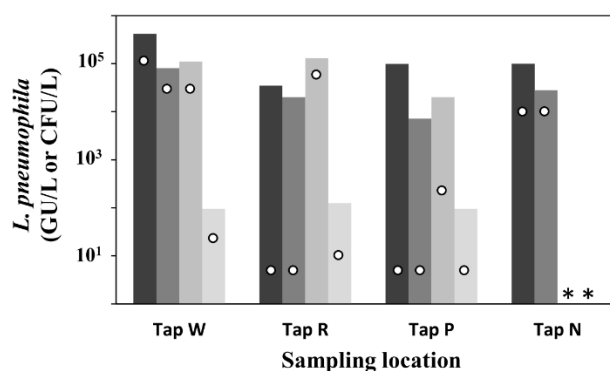


Figure 5. Levels of *L. pneumophila* in System B by qPCR (bars) and culture (circles) measured at three different points over time: November 2014 (black), February 2015 (dark grey), July 2015 (grey) and February 2016 (light grey). Results below the limit of detection (LD) were represented as 0.5LD; LD = 10 CFU/L and 190 genomic units/L (GU/L). Tap N was not sampled in July 2015 and February 2016 (*) due to the presence of point-of-use filtration at the tap.

These results suggest that the effectiveness of thermal disinfection is dependent on the established hydraulic conditions and conditions favorable to *Legionella* growth. In areas where temperature control is insufficient, distal amplification may occur, resulting in a number of taps remaining

positive for *Legionella* [8,25,35]. This was also evidenced in the present study, where in July 2015, additional sampling from one of the rooms on the seventh floor with deficient recirculation revealed an *L. pneumophila* concentration of 1200 CFU/L in culture. Therefore, maintenance of the thermal regime is an important driver in maintaining the control of distal amplification of *L. pneumophila*, near the points-of-use. However, this is difficult to achieve in older buildings that have an unbalanced distribution of water flow and temperature, due to a multitude of system changes over time (renovations, changes in water usage, building additions, new equipment).

The temperature diagnostic approach identified areas where hot water temperatures could not be maintained at or above 55 °C. These areas provide more favorable conditions for *L. pneumophila* growth and therefore increase the risk of exposure. Culture and qPCR detection confirmed the presence of *L. pneumophila* in areas where temperatures could not be maintained. However, mean copper levels above 400 µg/L after stagnation at the point-of-use did not significantly affect the presence of *L. pneumophila* in the water.

3. Experimental Section

The investigation was conducted in a 400-bed university hospital in Sherbrooke, Canada, on two separate hot water systems feeding Wing A (300 beds) and Wing B (100 beds). Both systems are supplied by municipal chlorinated surface water. The average pH was 7.5 (min 7.1; max 8.0; $n = 363$). A detailed characterization of the hot water systems was conducted as part of the investigation and is presented in the Results Section. Two nosocomial cases of *L. pneumophila* infection were reported in August 2014 in Wing A, from the oncology ward (7th floor) and from the surgery ward (8th floor). Following the reported cases, 250 mL of first flush hot water were collected from 25 taps (bath and sink) in the outbreak wing (System A) and 9 taps associated with System B. These samples were sent to an outside accredited laboratory for analysis. Results from this sampling were presented as the “before thermal disinfection” dataset in Table 1. The limit of detection was 1000 CFU/L.

3.1. Thermal Disinfection

A complete thermal disinfection of both systems was conducted as follows: temperature in the hot water system was raised over 70 °C and maintained for 60 min, before flushing at individual points-of-use. Water was discharged from each point-of-use for at least 7 min with hot water at temperatures over 70 °C. All of System A was disinfected over a single intervention of 14 h, whereas System B was disinfected over two interventions. The large number of points-of-use in System B made it impractical to perform thermal shock disinfection in a single intervention. First, the risers furthest from the water heater (4P and 11J) were thermally disinfected. After the first intervention and until the second intervention was completed, recirculation water from this sector was flushed directly down the drain. The second intervention was performed one week later. Immediately after thermal disinfection, resampling was conducted on 18 points in System A and 9 points in System B. Results from this sampling effort were referred to as “after thermal disinfection” in Table 1. The following corrective measures were also implemented after the thermal disinfection: the hot water temperature set point was increased to 60 °C, prior to its distribution around the hospital; all points-of-use in both wings were rinsed, weekly with hot and cold water for 2 to 3 min and monthly with hot water only; the temperature in the principal recirculation loop was monitored, ensuring it remained at or above 55 °C.

3.2. Hot Water Recirculation Loop Diagnostic

Continuous temperature monitoring was performed over a period of 2 weeks in System A and two successive periods of 2 weeks in System B, due to the higher number of loops that required monitoring. In System B, the monitoring was carried out on the floors and columns deemed most at risk for the proliferation of *Legionella*. The monitoring point locations are shown in Figure 1. The temperature of water was assessed using self-adhesive sensors, SA1XL and RDXL4SD Datalogger (Omega, Laval, QC, Canada), installed on horizontal and vertical pipes for hot water and recirculation, on monitored floors

(Figure 1). Temperatures were recorded every 5 min during the monitoring period. The hot water temperature of the principal flow and return loops was recorded by the hospital building management system every 5 min, at points immediately after the water heater in System B and after the recirculation valve in System A. The recirculation valve has a set point of 60 °C and uses recirculation water or municipal cold water to lower the water temperature coming out of the water heater (70 °C). The principal recirculated water temperature was measured at a point before the recirculation pump, in both systems.

3.3. Points-of-Use Characterization

Ongoing monitoring of water quality following the implementation of corrective measures was conducted four times: November 2014, February and July 2015 and February 2016. Sampling points were selected from the cold water system, the hot recirculation loop and points-of-use in each wing. A description of points sampled in each campaign is presented in Table S1. System points were flushed for 2 min prior to collecting 2.25 L of water. For points-of-use, 2.25 L of hot water were collected immediately upon opening the tap (first flush). Water was sampled in sterile polypropylene bottles with sodium thiosulfate (final concentration of 1.1 mg/L). Microbiological analyses were conducted as described in Section 3.4.

Points-of-use were characterized for their temperature, residual chlorine and copper/silver content. Temperature profiles were established for each point-of-use over a period of 15 min using the digital thermometer VWR Traceable® (VWR International, Edmonton, AB, Canada) inserted into the sampled water. Temperature was measured in 500-mL increments for the first 3 L and every minute until 15 min at a fixed flow rate of 6 L/min. Residual chlorine in all samples was measured on-site using a Pocket Colorimeter™ II (Hach, Loveland, CO, USA). Total copper and silver concentrations were measured in hot water ($n = 23$) and cold water ($n = 12$) at the point-of-use, after 15 min of flushing and 30 min of stagnation, by inductively-coupled plasma mass spectrometry [36] after acid digestion of 0.5% HNO₃ for 24 h.

3.4. Microbiological Analysis

Water samples were mixed thoroughly and divided into equal samples for the isolation and quantification of *Legionella* spp. and *L. pneumophila* by culture and qPCR. The culture of *Legionella* spp. and *L. pneumophila* was performed according to the AFNOR (Association Française de Normalisation: the French Standards Association) NF-T90-431 [37]. Briefly, a small sample volume (0.2 mL) and additional volumes filtered through sterile 0.4-µm polycarbonate membranes (100 mL, 10 mL and 1 mL) (Maine Manufacturing, LLC, Sanford, ME, USA) were plated on glycine, vancomycin, polymyxin and cycloheximide (GVPC) selective agar (Innovation Diagnostics Inc., Blainville, QC, Canada) and incubated at 36 °C for 10 days. Filtered samples were subjected to acid treatment (pH = 2; 5 min) prior to plating. Typical colonies that developed after 4 to 10 days were sub-cultured on confirmation plates (buffered charcoal yeast extract (BCYE) with/without cysteine or blood agar) for 2 to 4 days, at 36 °C. Resulting colonies that developed on BCYE agar, but neither on blood agar, nor on BCYE without cysteine, were considered as *Legionella* spp. Confirmation of *L. pneumophila* was conducted using the *Legionella* latex test (DR0800, OXOID Limited, Nepean, ON, Canada). The calculated detection limit for the culture method was 10 CFU/L for both *Legionella* spp. and *L. pneumophila*. Detection by qPCR was performed on 1 L of sampled water, following the AFNOR NF-T90-71 method [38] with the GeneDisc® Cyclex, *Legionella* DUO GeneDisc® (Pall). This plate allows duplicate analysis of five DNAs extracted from water samples and a negative control. An internal control for the inhibition of *L. pneumophila* and *Legionella* spp. is also included. The primers and probes used are specified by the AFNOR NF-T90-471. All culture and qPCR analyses were performed by the Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ).

3.5. Statistics

Culture and qPCR results for Systems A and B were determined to be non-parametric. The Kruskal–Wallis test was used to determine if there was a significant change in culture and qPCR results, in each system over the four different sampling dates. Results were considered significant if $p \leq 0.5$.

4. Conclusions

In this study, thermal disinfection of one hot water distribution system implicated in previous cases of legionellosis resulted in a significant decline in culturable *L. pneumophila* concentrations. However, limited success was observed in a second hot water system at the same hospital. Simple and low cost temperature monitoring was used to investigate the hydraulic regime in the water system of the outbreak wing. Results revealed significant recirculation failures that were most likely the cause of the outbreak. The combination of an enhanced thermal regime with the implementation of corrective measures (flushing taps weekly, removing dead legs, repairing faulty devices) to ensure the maintenance of this regime further helped to reduce the levels of *L. pneumophila* in the outbreak wing, as measured by qPCR and culture. The percentage positive culture was reduced below 30%, and a significant reduction in the level of contamination in the system was observed by qPCR. These observations emphasize the importance of rigorously maintaining the thermal regime through local interventions, to minimize *L. pneumophila* concentrations at the points-of-use. Where important systematic hydraulic deficiencies were confirmed, there was no significant reduction in *L. pneumophila* at the points-of-use until they were addressed, regardless of lower concentrations in the primary and secondary loops. Quantitative PCR-based monitoring can complement culture-based methods and has proven useful at monitoring long-term changes in *L. pneumophila* levels in the presence of disinfecting agents affecting cell culturability. The results imply that local conditions may drive the risk of legionellosis in older buildings and that monitoring of the conditions in the primary distribution system should not be relied upon to evaluate risk. The temperature diagnostic method applied on the subordinate flow and return loops was a useful tool to identify specific areas with deficient equipment or hydraulics that prevented the maintenance of temperatures over time. As such, it allowed corrective measures to be prioritized in those areas of most need, thus reducing the risk of patient exposure to *L. pneumophila*.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2076-0817/5/2/35/s1>, Figure S1: Temperature measured at the water heater outlet and on the return loop prior to the water heater for systems A and B, Table S1: Mean temperature measured on horizontal and vertical pipes monitored for hot water and recirculation, Table S2: Faucet characterization and sampling plan.

Acknowledgments: This study was supported by the partners of the NSERC Industrial Chair on Drinking Water. The authors would like to thank the Chair staff, especially Yves Fontaine, the hospital staff, especially Manon Desaulniers and Josée Vachon, and Manuela Villion from CEAEQ for her help with microbiological analyses.

Author Contributions: All authors contributed to the design of the study, including the risk assessment and the definition of corrective measures in the weeks following the outbreak. Jules Racine and Serge Kouamé led the thermal disinfection and hydraulic improvements, while Emilie Bédard, Inès Boppe, Serge Kouamé and Michèle Prévost led the temperature diagnostic effort. *L. pneumophila* sampling was overseen by Jules Racine, Emilie Bédard, Philippe Martin and Louis Valiquette. Data analysis was performed by Jules Racine, Emilie Bédard, Inès Boppe and Michèle Prévost. Manuscript preparation was led by Emilie Bédard, while Inès Boppe and Michèle Prévost assisted in the writing.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References and Notes

1. Bartley, P.B.; Ben Zakour, N.L.; Stanton-Cook, M.; Muguli, R.; Prado, L.; Garnys, V.; Taylor, K.; Barnett, T.C.; Pinna, G.; Robson, J.; et al. Hospital-wide eradication of a nosocomial *Legionella pneumophila* serogroup 1 outbreak. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *62*, 273–279. [CrossRef] [PubMed]

2. Darelid, J.; Lofgren, S.; Malmvall, B.E. Control of nosocomial legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55 °C: Experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. *J. Hosp. Infect.* **2002**, *50*, 213–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Demirjian, A.; Lucas, C.E.; Garrison, L.E.; Kozak-Muiznieks, N.A.; States, S.; Brown, E.W.; Wortham, J.M.; Beaudoin, A.; Casey, M.L.; Marriott, C.; *et al.* The importance of clinical surveillance in detecting legionnaires' disease outbreaks: A large outbreak in a hospital with a *Legionella* disinfection system—Pennsylvania, 2011–2012. *Clin. Infect. Dis.* **2015**, *60*, 1596–1602. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Montagna, M.T.; Ricci, C.; Napoli, C.; Tat, D.; Scaturro, M.; Barbuti, G.; Pierucci, G.; Castellani Pastoris, M. *Legionella pneumophila* serogroup 5 infection in the presence of multiple environmental contamination. The importance of a bacteriological diagnosis. *Ital. J. Public Health* **2007**. [[CrossRef](#)]
5. Arvand, M.; Jungkind, K.; Hack, A. Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: Do we know the true dimension? *Eurosurveillance* **2011**, *16*, 1–6.
6. Bargellini, A.; Marchesi, I.; Righi, E.; Ferrari, A.; Cencetti, S.; Borella, P.; Rovesti, S. Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Res.* **2011**, *45*, 2315–2321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Martinelli, F.; Caruso, A.; Moschini, L.; Turano, A.; Scarcella, C.; Speziani, F. A comparison of *Legionella pneumophila* occurrence in hot water tanks and instantaneous devices in domestic, nosocomial, and community environments. *Curr. Microbiol.* **2000**, *41*, 374–376. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Serrano-Suarez, A.; Dellunde, J.; Salvado, H.; Cervero-Arago, S.; Mendez, J.; Canals, O.; Blanco, S.; Arcas, A.; Araujo, R. Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2013**, *20*, 5534–5544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Stout, J.E.; Muder, R.R.; Mietzner, S.; Wagener, M.M.; Perri, M.B.; DeRoos, K.; Goodrich, D.; Arnold, W.; Williamson, T.; Ruark, O.; *et al.* Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: A national surveillance study with clinical correlations. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2007**, *28*, 818–824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Collier, S.A.; Stockman, L.J.; Hicks, L.A.; Garrison, L.E.; Zhou, F.J.; Beach, M.J. Direct healthcare costs of selected diseases primarily or partially transmitted by water. *Epidemiol. Infect.* **2012**, *140*, 2003–2013. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Health and Safety Executive (HSE). *Legionnaires' Disease: Technical Guidance. Part 2: The Control of Legionella Bacteria in Hot and Cold Water Systems*; HSE Books: Liverpool, UK, 2013.
12. Torii, K.; Iinuma, Y.; Ichikawa, M.; Kato, K.; Koide, M.; Baba, H.; Suzuki, R.; Ohta, M. A case of nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Jpn. J. Infect. Dis.* **2003**, *56*, 101–102. [[PubMed](#)]
13. République Française. *Arrêté du 1er Février 2010 Relatif à la Surveillance des Légionelles dans les Installations de Production, de Stockage et de Distribution d'eau Chaude Sanitaire*; Legifrance: Paris, France, 2010.
14. DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water. *Drinking Water Heating and Drinking Water Piping Systems; Technical Measures to Reduce Legionella Growth; Design, Construction, Operation and Rehabilitation Of Drinking Water Installations*; Technical Rule: Code of Practice w 551; Drinking Water Heating and Drinking Water Piping Systems: Bonn, Germany, 2004.
15. Regiona Assessorato alla Sanità; Ministero della Santa Dipartimento della Prevenzione; Istituto Superiore di Sanita Registro Nazionale delle Legionellosi. *Conferenza Permanente per i Rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano. Documento di Linee-Guida per la Prevenzione e il Controllo della Legionellosi*; Health Ministry: Rome, Italy, 2002.
16. Austrian Standards Institute. *Hygienerelevante Planung, Ausführung, Betrieb, Wartung, Überwachung und Sanierung von Zentralen Trinkwasser-Wärmungsanlagen*; Austrian Standards Institute: Vienna, Austria, 2007.
17. Office Fédéral de la Santé Publique. *Legionella et Légionellose*; Office Fédéral de la Santé Publique: Berne, Switzerland, 2008.
18. Government of South Australia; Health Protection Programs; Public Health Services; Public Health and Clinical Systems; Department for Health and Ageing; On the recommendation of the Chief Public Health Officer. *Guidelines for the Control of Legionella in Manufactured Water Systems in South Australia 2008*; 9781742435169; Government of South Australia: Rundle, Australia, 2013.
19. Lee, J.V.; Lai, S.; Exner, M.; Lenz, J.; Gaia, V.; Casati, S.; Hartemann, P.; Lück, C.; Pangon, B.; Ricci, M.L.; *et al.* An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems. *J. Appl. Microbiol.* **2011**, *110*, 1032–1044. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

20. Bédard, E.; Fey, S.; Charron, D.; Lalancette, C.; Cantin, P.; Dolcé, P.; Laferrière, C.; Déziel, E.; Prévost, M. Temperature diagnostic to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems. *Water Res.* **2015**, *71*, 244–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB). *Guide Technique—Maîtrise du Risque de Développement des Légionelles dans les Réseaux d'eau Chaude Sanitaire—Défaillances et Préconisations*; CSTB Éditions: Marne la Vallée, France, 2012.
22. République Française. *Circulaire n° dgs/ea4/2010/448 du 21 Décembre 2010 Relative aux Missions des Agences Régionales de Santé dans la Mise en Oeuvre de L'arrêté du 1er Février 2010 Relatif à la Surveillance des Légionelles dans les Installations de Production, de Stockage et de Distribution d'eau Chaude Sanitaire*; Legifrance: Paris, France, 2010.
23. Lin, Y.E.; Stout, J.E.; Yu, V.L. Controlling *Legionella* in hospital drinking water: An evidence-based review of disinfection methods. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2011**, *32*, 166–173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Ezzeddine, H.; Van Ossel, C.; Delmee, M.; Wauters, G. *Legionella* spp. in a hospital hot water system: Effect of control measures. *J. Hosp. Infect.* **1989**, *13*, 121–131. [[CrossRef](#)]
25. Blanc, D.S.; Carrara, P.; Zanetti, G.; Francioli, P. Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: Seven years of experience in a university teaching hospital. *J. Hosp. Infect.* **2005**, *60*, 69–72. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hrubá, L. The colonization of hot water systems by *Legionella*. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2009**, *16*, 115–119. [[PubMed](#)]
27. García, M.T.; Jones, S.; Pelaz, C.; Millar, R.D.; Abu Kwaik, Y. *Acanthamoeba polyphaga* resuscitates viable non-culturable *Legionella pneumophila* after disinfection. *Environ. Microbiol.* **2007**, *9*, 1267–1277. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Alleron, L.; Merlet, N.; Lacombe, C.; Frère, J. Long-term survival of *Legionella pneumophila* in the viable but nonculturable state after monochloramine treatment. *Curr. Microbiol.* **2008**, *57*, 497–502. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Serrano-Suarez, A.; Araujo, R. Evaluation of *Legionella* presence in the water system of a public building by semi-nested polymerase chain reaction as a rapid screening method complementary to plate count. *Water Sci. Technol. Water Supply* **2013**, *13*, 1560–1568. [[CrossRef](#)]
30. Donohue, M.J.; Vesper, S.J.; Mistry, J.; King, D.; Kostich, M.; Pfaller, S.; O'Connell, K. Widespread molecular detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in cold water taps across the United States. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 3145–3152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Rhoads, W.; Pruden, A.; Edwards, M. Convective mixing in distal pipes exacerbates *Legionella pneumophila* growth in hot water plumbing. *Pathogens* **2016**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Bedard, E.; Laferrière, C.; Charron, D.; Lalancette, C.; Renaud, C.; Desmarais, N.; Déziel, E.; Prévost, M. Post-outbreak investigation of *Pseudomonas aeruginosa* faucet contamination by quantitative polymerase chain reaction and environmental factors affecting positivity. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2015**, *36*, 1337–1343. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Best, M.; Yu, V.L.; Stout, J.; Goetz, A.; Muder, R.R.; Taylor, F. *Legionellaceae* in the hospital water-supply. Epidemiological link with disease and evaluation of a method for control of nosocomial legionnaires' disease and pittsburgh pneumonia. *Lancet* **1983**, *2*, 307–310. [[CrossRef](#)]
34. Bédard, E.; Lévesque, S.; Paranjape, K.; Lalancette, C.; Dolcé, C.E.; Villion, M.; Valiquette, L.; Faucher, S.; Prévost, M. Energy conservation promotes *Legionella pneumophila* outbreak: The role of heat exchangers. Unpublished work. 2016.
35. Cristina, M.L.; Spagnolo, A.M.; Casini, B.; Baggiani, A.; Del Giudice, P.; Brusaferrro, S.; Poscia, A.; Moscato, U.; Perdelli, F.; Orlando, P. The impact of aerators on water contamination by emerging gram-negative opportunists in at-risk hospital departments. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2014**, *35*, 122–129. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. United States Environmental Protection Agency (USEPA). *Method 200.8—Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma—Mass Spectrometry (Revision 5.4—Emmc Version)*; Office of Research and Development: Cincinnati, OH, USA, 1994.

37. Association Française de Normalisation (AFNOR). *Qualité de l'eau—Recherche et Dénombrement de Legionella spp. et de Legionella pneumophila—Méthode par Ensemencement Direct et Après Concentration par Filtration sur Membrane ou Centrifugation*; NF T90–431; AFNOR: La Plaine Saint-Denis, France, 2014.
38. Association Française de Normalisation (AFNOR). *Qualité de l'eau—Détection et quantification des Legionella et/ou Legionella pneumophila par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (rt-PCR)*. In *Norme Française*; NFT90-471AFNOR: La Plaine Saint-Denis, France, 2010.



© 2016 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Supplementary Materials: Combination of Heat Shock and Enhanced Thermal Regime to Control the Growth of a Persistent *Legionella pneumophila* Strain

Emilie Bédard, Inès Boppe, Serge Kouamé, Philippe Martin, Linda Pinsonneault, Louis Valiquette, Jules Racine and Michèle Prévost

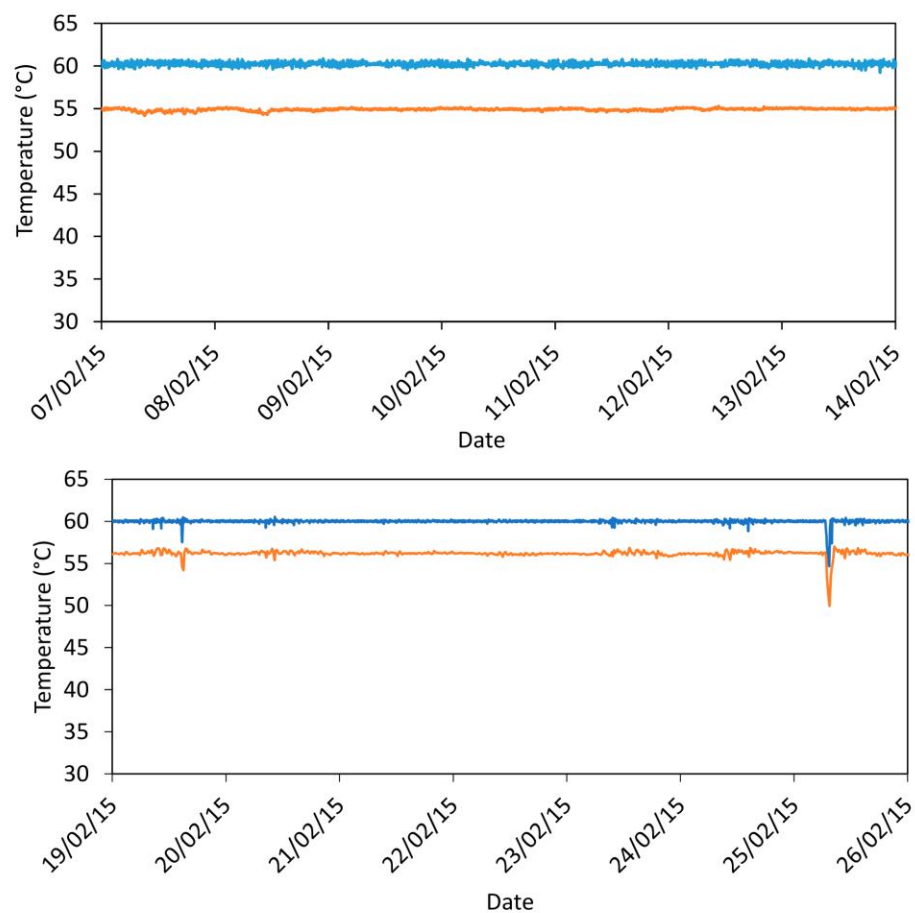


Figure S1. Temperature measured at the water heater outlet (blue) and on the return loop prior to the water heater (orange) for systems A and B.

Table S1. Mean temperature measured on horizontal and vertical pipes monitored for hot water and recirculation.

System	Riser	Floor	Duration (d)	Hot Water Temp. (°C) Mean \pm SD		Mean Recirc. Temp. (°C) Mean \pm SD		Temp. Loss (°C) Horizontal Loop
				Vertical	Horizontal	Vertical	Horizontal	
A	na	2	17	58.7 \pm 0.09	55.8 \pm 0.21	53 \pm 0.50	55.9 \pm 0.36	0
		3	30	57.1 \pm 0.28	57.4 \pm 0.12	48.8 \pm 0.55	54.8 \pm 0.14	2.6
		4	17	58.4 \pm 0.08	58.7 \pm 0.09	50.7 \pm 0.78	52.4 \pm 1.06	6.3
		5	17	58.5 \pm 0.09	58.6 \pm 0.09	48.6 \pm 0.91	52.5 \pm 1.81	6.1
		6	17	58.8 \pm 0.08	56.3 \pm 0.08	47.7 \pm 0.99	50.9 \pm 0.79	5.4
		7	17	58.3 \pm 0.09	58.2 \pm 0.26	48.2 \pm 1.34	39.8 \pm 4.12	18.4
		8	17	58.9 \pm 0.09	58.9 \pm 0.10	52.0 \pm 0.97	44.9 \pm 1.02	14.0
		9	17	59.0 \pm 0.11	58.4 \pm 0.15	53.0 \pm 0.55	53.1 \pm 0.54	5.3
		10	17	59.2 \pm 0.18	58.5 \pm 0.57	58.3 \pm 0.16	50.1 \pm 0.57	8.4
B	12N	2	24	54.8 \pm 2.56	57.4 \pm 2.71	54.2 \pm 2.46	51.9 \pm 2.55	5.5
		3	24	55.1 \pm 2.58	58.5 \pm 2.87	54.7 \pm 2.58	55.5 \pm 2.60	3
	11R	2	24	58.3 \pm 2.76	57.6 \pm 2.72	49.5 \pm 2.05	53.4 \pm 2.42	4.2
		3	24	-	56.2 \pm 2.65	-	53.5 \pm 2.47	2.7
	11J	3	24	57.5 \pm 2.77	57.3 \pm 2.75	53.6 \pm 2.45	55.8 \pm 2.60	1.5
		4	24	57.9 \pm 2.78	58.0 \pm 2.79	50.3 \pm 2.51	55.5 \pm 2.56	2.5
		5	24	-	58.1 \pm 2.80	-	55.3 \pm 2.56	2.8
		6	24	-	57.9 \pm 2.72	-	54.4 \pm 2.64	3.5
	4P	2	24	-	56.5 \pm 2.70	-	53.2 \pm 2.41	3.3
		5	24	55.5 \pm 2.58	57.2 \pm 2.67	51.4 \pm 2.27	51.1 \pm 2.69	6.1
		6	24	55.4 \pm 2.60	56.8 \pm 2.67	43.1 \pm 1.59	52.5 \pm 2.34	4.3
	SS & 1	3	3	56.9 \pm 0.96	56.5 \pm 1.38	53.6 \pm 1.53	44.1 \pm 1.04	12.4

Table S2. Faucet characterization and sampling plan.

System	Riser	Floor	ID	Type of Faucet	Connection Material	Mitigated	Sampling			Lp
							T° Profiles	Cu-Cold Water	Cu-Hot Water	
A	n.a.	10	A	Manual	Flexible piping		x		x	x
		10	B	Manual	Flexible piping		x	x	x	x
		9	C	Foot-operated	Copper		x	x	x	x
		8	D	Manual	Flexible piping	x	x		x	x
		7	E	Manual	Copper		x	x	x	x
		7	F	Manual	Flexible piping		x	x	x	x
		7	G	Manual	Copper		x	x	x	
		6	H	Electronic	Flexible piping	x	x		x	x
		5	I	Electronic	Flexible piping	x	x	x	x	x
		5	J	Manual	Flexible piping		x	x	x	x
		4	K	Electronic	Flexible piping	x	x		x	
		3	L	Electronic	Flexible piping	x	x		x	x
B		1	M	Manual	Flexible piping		x		x	
		6	4P	N	Electronic	x			x	x
		6	11J	O	Manual				x	
		5	11J	P	Foot operated		x		x	
		4	11J	Q	Manual		x	x	x	x
		4	4P	R	Manual		x	x	x	
		4	4P	S	Manual		x		x	x
		3	11R	T	Manual		x		x	
		2	11R	U	Manual		x	x	x	
		2	12N	V	Manual		x	x	x	
		1	-	W	Manual		x	x	x	
		SS	-	X	Manual		x		x	x

ANNEXE 2: Figure A2.1 de l'article "Investigative approach to improve hot water system hydraulics through temperature monitoring to reduce building environmental quality hazard associated to Legionella".



Figure A2.1: Photo of the faulty shower device in Wing 3. A: mixing valve, B: Upper shower faucet, C: Lower shower faucet. When the patient only closes the upper /lower shower faucet, hot and cold water constantly mix in the mixing valve.